

**ANA FILIPA LOPES SILVA**

**MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES:  
ANÁLISE DOS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO  
USADO EM CINCO CASOS CLÍNICOS**

**Orientadora:** Professora Doutora Andreia Santos

**Co-orientadora:** Dra. Verónica Azevedo

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2017**

**ANA FILIPA LOPES SILVA**

**MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES:  
ANÁLISE DOS PROTOCOLOS DE TRATAMENTO  
USADO EM CINCO CASOS CLÍNICOS**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado  
em Medicina Veterinária conferido pela Universidade  
Lusófona de Humanidades e Tecnologia

Presidente: Prof<sup>a</sup> Doutora Laurentina Pedroso  
Arguente: Prof. Doutor Augusto Matos (ICBAS)  
Orientador: Prof<sup>a</sup>. Doutora Andreia Santos  
Vogal: Prof<sup>a</sup> Doutora Margarida Alves

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2017**

## Agradecimentos

À Professora Doutora Andreia Santos, pela paciência demonstrada ao longo da elaboração desta dissertação. Pela compreensão e tempo despendido na correção e orientação da tese, bem como todos os conselhos dados a esta que foi, por vezes, uma aluna aluada.

À Doutora Verónica Azevedo, pelas infindáveis noites sem dormir a rever dados para a tese, pelas horas de paciência e amizade. Pelos ouvidos amigos em horas de aflição. E especialmente pelo tempo despendido na minha aprendizagem e formação em clínica de pequenos animais.

A toda a equipa do Hospital Veterinário Sul do Tejo, com um especial carinho pela equipa de enfermagem, André Felisberto (com S) e Catarina Conceição (já viste o que fizeste?), tal como vos tentei dizer em diversos momentos de estágio, vocês foram uma força enorme em momentos onde até os nervos me enervavam. Graças a vocês consegui tornar proficientes tarefas que eram uma angústia e ganhar força nas vossas palavras de apoio. Vocês foram o meu abraço nos momentos tristes e o meu sorriso nos erros toscos. Que a vida vos sorria, como vocês me fizeram sorrir a mim.

Às minhas “BEST” que me acompanharam em todas as minhas lutas, em todos os pontos altos e baixos, em todas as preocupações e vitórias. Vocês ficaram ao meu lado quando eu era o pior de mim para celebrar o que seria o meu melhor. Obrigada Raquel Teixeira, Cristiana Pinto e Iryna Shev por serem quem são em todos os momentos da minha vida.

Às inúmeras amizades criadas em todos os meus anos de ensino superior, especialmente Ana Fernandes, Mariana Aleixo, Ana Almeida e Mariana Barata. Foram muitas horas de sono perdidas em conjunto, muitos altos e baixos e no fim uma amizade com muitas gargalhadas e alegrias.

To all the friends that couldn't be here “in real life”, but followed me, and took every step with a smile in order for me not to feel alone in this broken world with the unseen potential to be mended. Thank you Uzair Jameel for all your love in all the moments I least deserved it.

## Resumo

Os mastocitomas são neoplasias comuns em cães, representando 10 a 20% de todos os tumores cutâneos nesta espécie. A elevada prevalência desta doença neoplásica, bem como o seu comportamento biológico por vezes imprevisível, tornam o seu diagnóstico e tratamento muito importantes.

O diagnóstico é, na maioria das vezes, obtido através de citologia aspirativa do nódulo, embora em alguns casos seja necessário realizar biopsia incisional para análise histológica. Após confirmação do diagnóstico, é necessário determinar qual a abordagem terapêutica mais adequada a cada caso, o que depende de diversos parâmetros, nomeadamente da localização da massa primária, do tamanho, do grau histológico e da extensão da disseminação da doença.

Esta dissertação teve como objectivo documentar casos práticos de mastocitomas em cães e analisar os respectivos protocolos de tratamento aplicados. Para esse efeito, foram estudados cinco casos de mastocitoma cutâneo consultados no Hospital Veterinário Sul do Tejo, tendo-se abordado algumas modalidades terapêuticas, entre elas a exérese cirúrgica, a quimioterapia e o tratamento com inibidores de tirosinas cinases.

Verificou-se que a maioria dos casos de mastocitomas cutâneos caninos foram diagnosticados através de citologia. O estadio clínico foi realizado de forma completa em apenas um dos cães e a forma de tratamento mais empregue foi a excisão cirúrgica dos nódulos. Constatou-se que as condições socioeconómicas dos proprietários foram um dos factores mais importantes na tomada de decisão sobre a escolha da modalidade de tratamento, mesmo que em quatro casos não tivesse sido a mais indicada sob o ponto de vista médico. Constatou-se também que é necessário melhorar a metodologia clínica adotada na abordagem aos casos de oncologia.

Palavras-chave: Cão; Mastocitomas; Oncologia; Protocolos de tratamento; Tumores de pele.

## **Abstract**

Mast cell tumors are common tumors in dogs, accounting for 10 to 20% of all cutaneous tumors in this species. The high prevalence of this neoplastic disease, as well as its sometimes unpredictable biological behavior, makes its diagnosis and treatment very important.

Diagnosis is most often obtained through cytology of the nodules, although in some cases it's necessary to do an incisional biopsy for a correct histopathological analysis. After the diagnosis, the therapeutical approach must be decided and carefully selected to each case, depending on several parameters, such as the location of the primary mass, tumor size, histological grade and extent of disease spread.

This dissertation aimed to document practical cases of mastocytomas in dogs and their treatment protocols. For this purpose, five cases of cutaneous mastocytoma, including several therapeutic modalities, such as surgical excision, chemotherapy and tyrosine kinase inhibitors, were studied and analyzed at Hospital Veterinário Sul do Tejo.

It was found that the majority of the cases were diagnosed by cytology. The clinical stage was performed completely in two of the dogs and the treatment most often used was the surgical excision of the nodules. It was verified that the socioeconomic difficulties of the owners were the most important factor for the decision making of the treatment modality, even though in four cases it was not the best therapy to implement. It was also found that it is necessary to improve the clinical methodology adopted in the approach of oncology cases.

Key-words: Dogs; Mast Cell Tumors; Oncology; Treatment Protocols; Skin Tumors.

## Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

- AINE's – Anti-inflamatórios não esteróides
- AgNORS - Regiões organizadoras nucleolares
- ALP – Fosfatase Alcalina
- ALT – Alanina Aminotransferase
- ATP - Adenosina trifosfato
- BID – Duas vezes ao dia (do latim, *Bis in die*)
- Bpm – Batimentos por minuto
- CAAF – Citologia Aspirativa por Agulha Fina
- CCF - Ciclofosfamida
- CCNU - 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosureia
- CE – Corpo estranho
- DIT- Duplicações internas em tandem
- EV – Via endovenosa
- FELV – Vírus da Leucemia Felina
- FGFR - Receptor do factor de crescimento dos fibroblastos (do inglês, Fibroblast growth factor receptor)
- FIV - Vírus da Imunodeficiência Felina
- GI – Gastrointestinais
- GLC - Glucocorticóides
- IM - Intramuscular
- HVST – Hospital Veterinário Sul do Tejo
- TNF- $\alpha$  - Factor de necrose tumoral  $\alpha$
- MOC - Microscópio ótico Composto
- MT - Mastócitos
- MTC – Mastocitomas
- MTCC – Mastocitomas cutâneos
- PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina
- PCR - Reacção em cadeia da polimerase (do inglês, Polymerase chain reaction,
- PDGFR – Receptor do factor de crescimento derivado das plaquetas (do inglês, Platelet-derived growth factor receptor)
- PIF - Peritonite Infecciosa Felina
- PO – Por via oral (do latim, *Per os*)
- QOD – Cada 48 horas (do latim, *quaque altera die*)

SID – Uma vez ao dia (do latim, *Semel in die*)  
TAC – Tomografia Axial Computorizada  
TID - Três vezes ao dia (do latim, *Ter in die*)  
TKI's – Inibidores das tirosinas cinases (do inglês, tyrosine kinase inhibitors)  
TS – Tempo de sobrevida  
RC – Resposta Completa  
RP – Resposta Parcial  
Rpm – Respirações por minuto  
RT - Radioterapia  
VBL - Vimblastina  
VEGF – Factor de crescimento do endotélio vascular (do inglês, Vascular Endothelial Growth factor)

# Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iii
Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas .....	1
Índice de gráficos .....	3
Índice de figuras .....	4
Índice de tabelas .....	5
Capítulo 1 - Actividades de Estágio .....	6
Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica sobre Mastocitomas caninos .....	10
2.1. Os mastócitos e o mastocitoma .....	10
2.2. Factores epidemiológicos .....	11
2.2.1. Patogenia .....	11
2.2.2. Raça, Idade e Género .....	11
2.3. Sintomatologia .....	12
2.4. Diagnóstico .....	13
2.4.1. Exames complementares de estadiamento .....	13
2.4.1.1. Classificação do estágio clínico .....	15
2.5. Fatores de Prognóstico .....	16
2.5.1. Grau histológico .....	16
2.5.2. Localização .....	18
2.5.3. Marcadores de Proliferação Celular .....	18
2.5.3.1. Índice Mitótico .....	18
2.5.3.2. Ki67 e AgNORS .....	19
2.5.4. Padrão de expressão imunohistoquímico do c-Kit .....	20
2.6. Modalidades Terapêuticas .....	21
2.6.1. Extirpação cirúrgica do tumor .....	21
2.6.2. Radioterapia .....	22
2.6.3. Quimioterapia .....	22
2.6.3.1. Protocolo de vimblastina com prednisolona .....	23
2.6.3.2. Protocolo de lomustina com prednisolona .....	23
2.6.3.3. Protocolo de clorambucil .....	24
2.6.4. Inibidores de tirosinas cinases .....	24



2.6.4.1.	Mesilato de Masitinib.....	25
2.6.4.2.	Fosfato de toceranib .....	25
2.6.5.	Tratamentos combinados .....	26
2.6.5.1.	Protocolos combinados de fosfato de toceranib com vimblastina ou lomustina.....	26
2.6.5.2.	Protocolos combinados de fosfato de toceranib com prednisolona e radioterapia hipofracionada .....	26
2.6.5.3.	Associação de fosfato de Toceranib com piroxicam.....	27
2.6.6.	Corticoterapia .....	27
2.6.7.	Outras modalidades terapêuticas .....	28
2.6.7.1.	Hipertermia .....	28
2.6.7.2.	Eletroquimioterapia .....	28
Capítulo 3 -	Materiais e Métodos .....	29
3.1.	População estudada.....	29
3.2.	Crítérios de Selecção .....	29
3.3.	Recolha dos dados clínicos.....	29
Capítulo 4 –	Resultados .....	30
Caso Clínico Nº 1	.....	30
Caso Clínico Nº2	.....	34
Caso clínico Nº3	.....	38
Caso clínico Nº4	.....	44
Caso Clínico Nº5	.....	47
Capítulo 5 -	Discussão.....	50
Capítulo 6 -	Conclusão.....	55
Referências bibliográficas	.....	58

## Índice de gráficos

Gráfico 1 - Casuística cirúrgica observada durante o estágio curricular .....	6
Gráfico 2 - Descrição da casuística clínica médica observada durante o estágio curricular .....	7
Gráfico 3 - Descrição quantitativa dos procedimentos clínicos práticos efectuados durante o estágio .....	9

## Índice de figuras

Figura 1 - Imagem de um Gato, de raça indeterminada, com carcinoma espinocelular.	8
Figura 2 - Radiografia abdominal latero-lateral .....	36
Figura 3 - Fotografia dos nódulos localizados na região vulvar.....	42
Figura 4 - Fotografias do nódulo ulcerado: rostro-caudal e latero-lateral .....	45

## Índice de tabelas

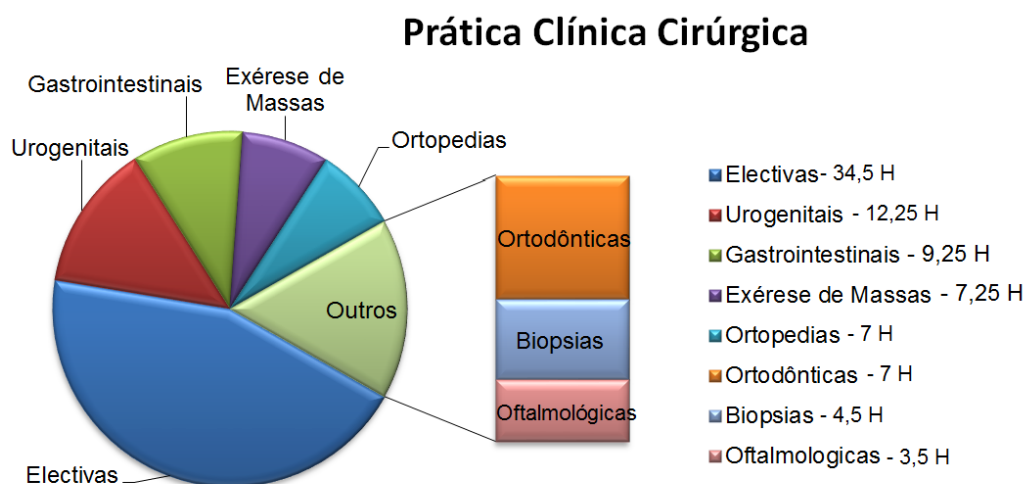
Tabela 1 - Sistema de estadiamento clínico .....	15
Tabela 2 - Hemograma realizado ao Ewok no dia 17/09/2015 .....	31
Tabela 3 - Hemograma realizado ao Ewok no dia 21/10/2015 .....	32
Tabela 4 - Hemograma realizado à Flapy no dia 03/10/2015 .....	35
Tabela 5 - Hemograma realizado à Flapy no dia 03/03/2016 .....	37
Tabela 6 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Flapy a 03/03/2016 .....	37
Tabela 7 - Protocolo de quimioterapia administrado à Bolota.....	40
Tabela 8 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Bolota a 15/03/2016.....	41
Tabela 9 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Bolota a 07/05/2016.....	42
Tabela 10 - Hemograma realizado ao Stimpy a 16/11/2015.....	48
Tabela 11 - Bioquímicas sanguíneas realizadas a 16/11/2015 .....	48

## Capítulo 1 - Actividades de Estágio

O presente relatório de estágio integra-se no âmbito da estrutura curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, leccionado na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias entre Setembro de 2010 a Dezembro de 2016.

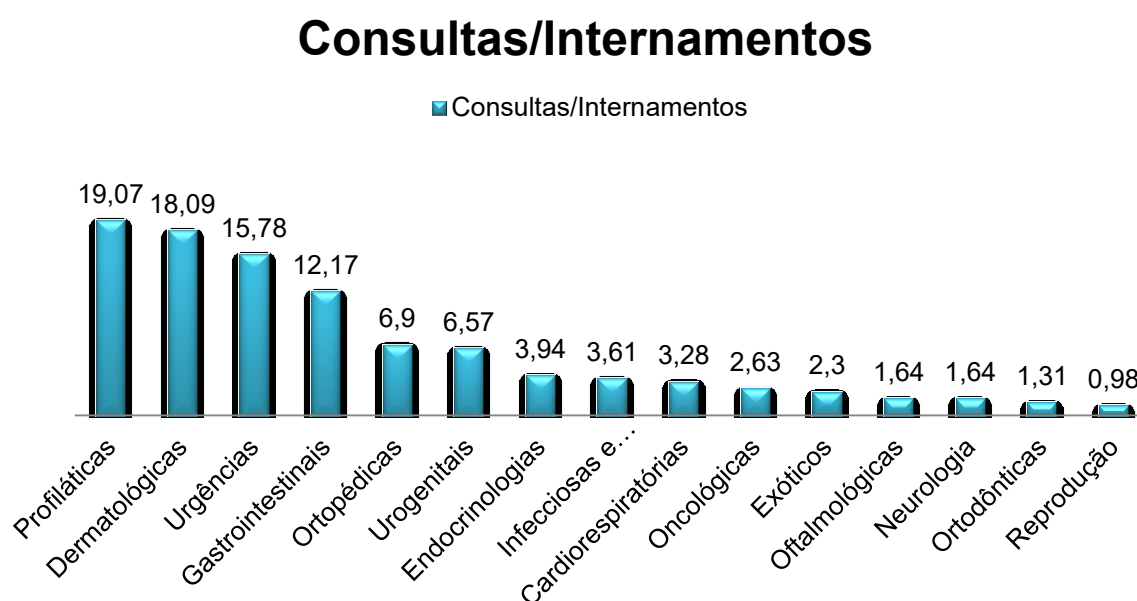
O estágio curricular foi realizado no Hospital Veterinário Sul do Tejo (HVST) no período de 10 de Setembro de 2015 a 10 de Março de 2016, durante o qual a aluna teve a oportunidade de contactar, em ambiente hospitalar, com casos clínicos das várias especialidades médicas veterinárias de animais de companhia. Neste trabalho foram incluídos animais cujo percurso clínico foi passível de ser acompanhado de forma integral. No entanto, foram observados muitos mais casos do que os descritos, mas nem todos foram totalmente seguidos devido à intensa casuística existente.

No decorrer do estágio, foi possível assistir e auxiliar em cirurgias (gráfico 1), consultas (gráfico 2) e diversos internamentos (gráfico 2). Os diversos tipos de procedimentos cirúrgicos em que a aluna participou incluíram desde orquiectomias/ovariohisterectomias (40,46%), urogenitais (14,36%), gastrointestinais (10,85%), exérese de massas cutâneas (8,50%), cirurgias ortopédicas (8,21%) e ortodônticas (8,21%), biópsias (5,27%) e cirurgias oftalmológicas (4,10%), completando um total de 85,25 horas de clínica cirúrgica e 128 casos clínicos, tanto de animais de companhia como de exóticos (gráfico 1)



**Gráfico 1 - Casuística cirúrgica observada durante o estágio curricular (H - horas de contacto)**

Durante os turnos de funcionamento diurno e nocturno do hospital, foram seguidas 297 consultas de animais de companhia e um 7 consultas de animais exóticos. A aluna contactou com casos das várias especialidades médicas, destacando-se um maior número de consultas de dermatologia, gastroenterologia e de medicina preventiva bem como ortopedia, urologia e oncologia. A separação por áreas de especialidade foi feita com base na principal sintomatologia apresentada à consulta, excepto no caso das consultas de urgência (em que não foram discriminadas as especialidades pois foi considerada uma área de especialidade por si só). O gráfico 2 ilustra de forma quantitativa o número de casos clínicos acompanhados durante o período de estágio.



**Gráfico 2 - Descrição da casuística clínica médica observada (em percentagem) durante o estágio curricular.**

A medicina preventiva foi a especialidade médica com o maior número de casos acompanhados. Esta refere-se maioritariamente a vacinações, desparasitações internas e externas, identificação electrónica e emissão de passaportes.

A segunda especialidade com maior número de casos foi a dermatologia onde foram contemplados maioritariamente casos de animais atópicos, mas também foram observados muitos animais com sarna demodécica, dermatite por malassezia, e dermatite alérgica à picada da pulga.

Na área de urgências foram englobadas todas as intervenções de carácter urgente, desde apneias/dispneias, traumas por atropelamento, mordeduras ou quedas, reacções anafiláticas, partos distócicos, até animais em *status epilepticus* e intoxicações, por permetrinas em gatos, por dicumarínicos e por auto-medicação em casa.

Na especialidade de gastroenterologia foram observados casos de gastrites, gastrites hemorrágicas, enterites, casos de corpo estranho gástrico e intestinal, pancreatites agudas e crônicas, colecistite aguda e fecaloma.

Na especialidade de ortopedia foram acompanhados casos de displasia da anca e/ou cotovelo, luxação de patela, fêmur e escápula, fraturas ósseas e ruptura do ligamento cruzado cranial.

Na especialidade de nefrologia/urologia foram acompanhados casos de doença renal aguda e crônica, cálculos renais, uretrais, vesicais, e ureterais e um caso de “bypass” ureteral.

Na área de endocrinologia acompanhou casos de hipotireoidismo, hiperadrenocorticism, síndrome do eutiroides doente, diabetes mellitus, alguns complicados por ceto-acidose.

Na área de doenças infecciosas e parasitárias, foram acompanhados casos de parvovirose canina, peritonite infecciosa felina (PIF), vírus da imunodeficiência felina (FIV), vírus da leucemia felina (FELV), leishmaniose, dirofilariose, babesiose, erliquiose e otites parasitárias por ácaros.

Na especialidade de cardiologia, foram seguidos casos de cardiomiopatias dilatadas e hipertróficas.

Na área de oncologia, a aluna teve oportunidade de acompanhar casos de, carcinomas espinocelulares (figura 1), linfomas, fibrossarcomas, mastocitomas, histiocitomas e melanoma oral.



**Figura 1 - Imagem de um Gato, de raça indeterminada, com carcinoma espinocelular. (fotografia gentilmente cedida pela Dra. Verónica Azevedo).**

Na especialidade de animais exóticos, foram acompanhadas consultas de *Agapornis roseicollis roseicollis*, com fraturas a nível da ulna, abscessos por doença ortodôntica em coelho, e um nódulo cutâneo num porquinho da índia.

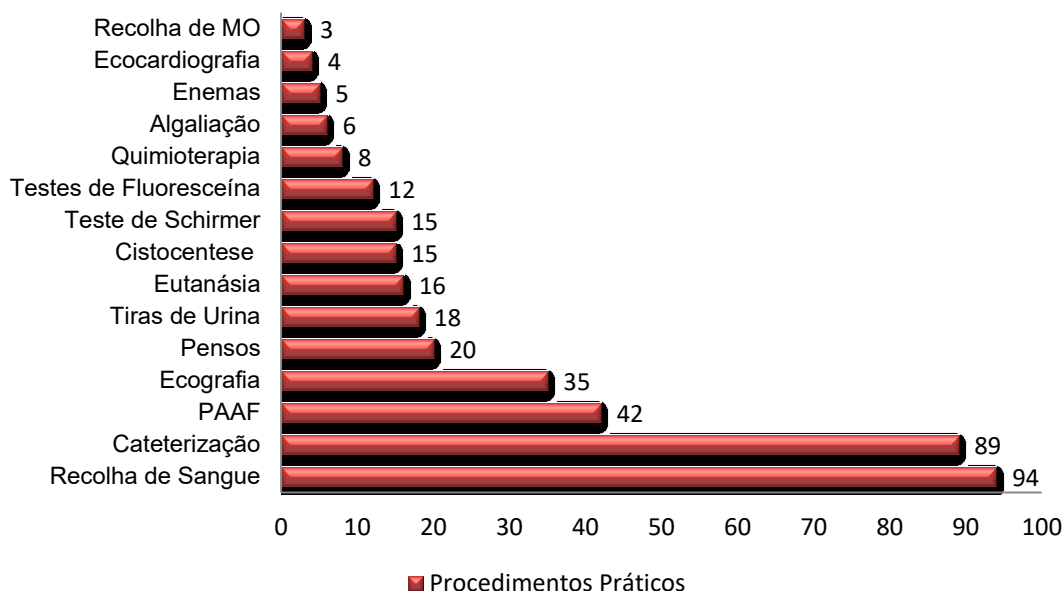
Na área de oftalmologia foi possível acompanhar casos de hifema, cataratas diabéticas, úlceras da córnea, prolapsos da glândula da membrana nictitante e casos de entropion em cães.

Na especialidade de neurologia foram apenas acompanhados casos de hérnias toraco-lombares e síndromes vestibulares.

Na área da medicina ortodôntica foram acompanhados casos de destartarização e excisão dentária tanto em cães por doença periodontal ou dentes decíduos retidos como em gatos por doença periodontal ou no seguimento do tratamento de casos do complexo gengivite-estomatite felina.

Em último foram observadas poucas consultas de reprodução, estando aqui englobadas as consultas relativas ao diagnóstico de gestação. Foram observados casos de carácter reprodutivo em outras consultas no entanto esses não foram englobados nessa área pois não foi a principal causa pela qual estes animais foram levados à consulta. A aluna pôde também acompanhar casos de testículos ectópicos, tumores uterinos, quistos ováricos e de retenção fetal.

Foram realizados diversos procedimentos práticos no âmbito da medicina clínica de animais de companhia (Gráfico 3), nomeadamente exames complementares de diagnóstico imagiológico (radiografias, ecografias, ecocardiografias, endoscopias), recolhas de sangue para hemograma e bioquímica sérica, colheitas de urina para urianálise, otoscopia e oftalmoscopia, aspirações citológicas, entre outros.



**Gráfico 3 - Descrição quantitativa dos procedimentos clínicos práticos efectuados durante o estágio. (MO - Medula óssea; PAAF - Punção Aspirativa por Agulha Fina)**



## Capítulo 2 – Revisão bibliográfica sobre mastocitomas caninos

### 2.1. Os mastócitos e o mastocitoma

Os mastócitos (MT) são células de acção fundamentalmente parácrina com origem em células precursoras hematopoiéticas da medula óssea, circulando na sua forma imatura no sangue, que maturam com o auxílio de citoquinas específicas em duas populações distintas (Junqueira e Carneiro, 2008), os MT da mucosa, presentes na mucosa intestinal e pulmões que aquando da sua diferenciação são regulados por diversas interleucinas derivadas das células T e os MT do tecido conjuntivo, presentes na pele e cavidade peritoneal cuja diferenciação é induzida pelo “stem cell factor” ou pelo ligando c-kit.

Citologicamente, na sua forma madura, o mastócito é uma célula grande com núcleo pequeno e de difícil visualização devido aos seus grânulos citoplasmáticos que coram intensamente e têm propriedades metacromáticas. Estes grânulos possuem mediadores químicos como a histamina e glicosaminoglicanos como a heparina, fatores quimiotáticos, proteinases, catepsina G, bem como prostaglandina D<sub>2</sub> e fatores de ativação plaquetária, o que faz com que os MT desempenhem um papel essencial na inflamação e reacções alérgicas, bem como o de promover a vascularização e a proliferação das células do endotélio (Junqueira e Carneiro, 2008; Kumar & Sharma, 2010).

Os mastocitomas (MTC) são uma neoplasia maligna resultante da proliferação desregulada dos mastócitos, constituindo cerca de 10-20% de todos os tumores cutâneos em cães (Villamil *et al.*, 2011; London & Thamm, 2013; Shoop *et al.*, 2015). As principais localizações de mastocitomas cutâneos e subcutâneos (MTCC) são: ≈24% porção proximal dos membros pélvicos, ≈17% nas regiões torácica e abdominal, ≈12% nos membros torácicos, ≈10% na região da cabeça e ≈3% na região do períneo. (Penn Veterinary Medicine, 2007). Estes tendem a ser solitários sendo que nódulos múltiplos ou satélite surgem mais frequentemente como recidivas em animais que previamente tiveram este tipo de neoplasia (Sledge *et al.*, 2016). A sua apresentação clínica é a de uma massa geralmente alopecica, eritematosa e de crescimento rápido. A ulceração é rara e ocorre fundamentalmente em massas de maiores dimensões e pruriginosas (London & Thamm, 2013; Stefanello *et al.*, 2015). Sendo proliferações neoplásicas de mastócitos, os MTC podem surgir em qualquer parte do organismo (Dobson *et al.*, 2010). A forma visceral, também referida como mastocitose sistémica, está frequentemente associada à proliferação neoplásica no baço, fígado, intestinos e medula óssea (Welle *et al.*, 2008; Quinta's-Cardama *et al.*, 2011), bem como nos linfonodos abdominais e glândulas adrenais (Book *et al.*, 2011).

## **2.2. Factores epidemiológicos**

### **2.2.1. Patogenia**

A etiologia dos MTCC é ainda desconhecida, sendo provavelmente de origem multifactorial (Shoop *et al.*, 2015). Artigos recentes referem que cerca de um terço dos casos de MTC apresentam uma mutação do recetor KIT, um receptor do tipo tirosina cinase, responsável pela regulação da sinalização intracelular de múltiplas vias que controlam a sobrevivência, proliferação, migração, maturação e desgranulação dos MT e a apoptose (Casagrande *et al.*, 2013; Takeuchi *et al.*, 2013). Actuam através da fosforilação de outras proteínas após um estímulo gerado por factores de crescimento ou substâncias extracelulares. O receptor KIT, codificado pelo gene c-kit, encontra-se expresso na superfície de membrana dos MT (entre outras células) e é normalmente activado através da ligação do “stem cell factor” (London *et al.*, 2009). Outros receptores da tirosina cinase importantes no desenvolvimento tumoral, são os envolvidos no processo de angiogénese, como o factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF), o fator de crescimento do receptor derivado das plaquetas (PDGFR), o receptor para o fator de crescimento dos fibroblastos (FGFR) e os receptores para a angiopoietina (London, 2013). Mutações no c-kit e diferentes expressões da proteína KIT têm vindo a ser associados a um mau prognóstico (Casagrande *et al.*, 2013; Takeuchi *et al.*, 2013). A investigação deste receptor levou à descoberta de duplicações internas em tandem (DIT) nos exões 11 e 12, mutações no domínio justamembranar que levam à ativação do receptor KIT na ausência de um ligando. As DIT são até 30% mais frequentes em tumores indiferenciados e estão associadas a um maior risco de metastização e recidiva (London *et al.*, 2009; Sledge *et al.*, 2016).

### **2.2.2. Raça, Idade e Género**

Os MTC têm uma maior prevalência em animais geriátricos, acima dos 9 anos, mas podem surgir em qualquer idade. As raças mais predispostas são o Retriever de Labrador, Golden Retriever, Weimaraner, American Staffordshire Terrier e raças braquiocefálicas como o Pug, o Boxer e Boston Terrier, apesar de haver uma grande prevalência em animais de raça indeterminada (Welle *et al.*, 2008; Warland & Dobson, 2013). Um estudo de Arendt *et al.* (2015) identificou a presença de mutações genéticas em localizações específicas do cromossoma 14 e do cromossoma 20 em cães da raça Golden Retriever americanos e europeus, respectivamente, que apresentavam MTC. As mutações genéticas encontradas confirmam a predisposição genética destas duas linhagens ao desenvolvimento de MTC. Um estudo efectuado nos EUA demonstrou um maior risco para o desenvolvimento de MTC

em fêmeas esterilizadas e machos inteiros (White *et al.*, 2011). No entanto são necessários mais estudos para melhor compreender qual a relação que as hormonas sexuais mantêm com o desenvolvimento de MTC, se alguma (White *et al.*, 2011).

### **2.3. Sintomatologia**

A sintomatologia associada aos MTCC está relacionada com a desgranulação dos MT, que permite a libertação das suas substâncias ativas, como a histamina, a heparina, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e enzimas proteolíticas (Brown *et al.*, 2008; Kumar & Sharma, 2010). Ocasionalmente, a desgranulação pode ocorrer por manipulação do nódulo no exame clínico ou durante a punção aspirativa, sendo visível sinais de inflamação local como eritema, rubor e edema (Sinal de Darier) (Kodre *et al.*, 2009); não obstante, o fenómeno pode também ocorrer espontaneamente e os animais podem apresentar um aumento significativo do tamanho do nódulo, equimoses, vômitos agudos, melena e colapso (Kiupel, 2017). Os síndromes paraneoplásicos causados por MTCC são variados e englobam coagulopatias locais e/ou sistémicas causadas pela libertação de heparina, atrasos na cicatrização, comprometimento vascular, e o mais comum, sinais de inflamação e ulceração gastrointestinal devido a hiperhistaminémia (Welle *et al.*, 2008; Blackwood *et al.*, 2012; Kiupel, 2017).

A hiperhistaminémia está presente sobretudo em animais com MTCC indiferenciados; esta leva à estimulação dos receptores  $H_2$  que se encontram nas células parietais provocando o aumento da secreção de ácido clorídrico e hipermotilidade gástrica (Kiupel, 2017). Em consequência, estes animais podem surgir à consulta com vômitos, hematemese, melena ou desconforto abdominal. Em casos mais severos, a hiperhistaminémia pode levar a choques anafilácticos e a síncope devido à hipotensão (Brown *et al.*, 2008; Gelderen *et al.*, 2011).

## **2.4. Diagnóstico**

A primeira abordagem diagnóstica após um exame físico cuidadoso deve ser a realização de uma citologia do nódulo através de punção aspirativa com agulha fina (PAAF) (Miller *et al.*, 2013). As células dos MTC esfoliam facilmente e o reconhecimento deste tipo de tumor é facilitado pelos grânulos metacromáticos que são facilmente identificados com os corantes Azul de Toluidina e o Wright-Giemsa, que são sobretudo apropriados para corar amostras com grânulos compostos por constituintes mais hidrossolúveis, mais finos e em menor quantidade, como é o caso dos MTC (Welle *et al.*, 2008; Qoku A *et al.*, 2016). No entanto, uma coloração de Romanowsky, como o Diff-Quik, pode ser suficiente para o diagnóstico nos casos de MTC com elevada granulação, tendo as vantagens de ser de fácil execução, rápida e económica (Allison & Velguth, 2010). É importante salientar que apesar de a citologia permitir o diagnóstico da maioria dos casos de MTC, não permite obter com exactidão o seu grau de diferenciação, pois de acordo com um estudo recente, cerca de 1/3 das citologias que atribuíam um grau elevado não coincidiam com os resultados da histopatologia (Camus *et al.*, 2016). Com efeito, a avaliação histopatológica é essencial para determinar o grau de diferenciação dos MTC, sendo um dos factores de prognóstico mais importantes para esta neoplasia, bem como para obter o diagnóstico definitivo nos casos em que os resultados citológicos são inconclusivos (Blackwood *et al.*, 2012).

### **2.4.1. Exames complementares de estadiamento**

Após a confirmação do diagnóstico de MTC por histopatologia, devem ser realizados exames complementares para avaliar se existe a disseminação da doença em outros órgãos, ou seja para determinar se há metastização (Blackwood *et al.*, 2012). Embora os MTCC tendam a metastizar pela via linfática para os gânglios linfáticos regionais, também podem metastizar à distância, através da via hematogénea para órgãos internos, como fígado, baço, gânglios linfáticos distantes e medula óssea (Dobson, 2010).

Desta forma, para o estadiamento desta neoplasia, devem ser realizadas pelo menos citologias do gânglio linfático regional, ecografia abdominal e análises de sangue; nos casos de MTC de elevado grau ou com critérios de comportamento biológico agressivo (por ex. crescimento rápido, ulceração, sinais de desgranulação, sintomatologia sistémica, alterações analíticas) o estadiamento deve também incluir citologias de fígado e de baço (mesmo que ecograficamente não tenham alterações), radiografias de tórax e citologia da medula óssea (Book *et al.*, 2011; Blackwood *et al.*, 2012).

A interpretação das citologias dos linfonodos deve ser cautelosa, uma vez que os MT são células cuja presença é normal nos gânglios, e por vezes é difícil de distinguir de

metastização (Dobson, 2010); nesta situação é mais frequente a observação de “clusters” de MT neoplásicos. É recomendado em caso de suspeita, a exérese do(s) linfonodo(s) e envio para histopatologia (Krick *et al.*, 2009; London & Thamm, 2013).

Apesar da expressão elevada de MT nos pulmões, a metastização para estes órgãos em MTC é rara (North & Banks, 2009; Garrett, 2014). No entanto, a realização de radiografias torácicas pode ser importante na deteção de doenças concomitantes, como patologias cardiopulmonares (London & Thamm, 2013) derrame pleural, linfadenomegália esternal e a presença de massas mediastínicas (Blackwood *et al.*, 2012) que apesar de serem raras (London, 2010), poderiam comprometer procedimentos futuros, como a realização do procedimento anestésico e extirpação do(s) nódulo(s).

A realização de buffy coat para verificar a presença de mastocitose periférica e a punção de medula óssea, têm sido descritos na literatura como dois dos parâmetros a avaliar. No entanto, a mastocitose periférica em cães, ao contrário do que sucede em gatos (Piviani *et al.*, 2013), ocorre mais frequentemente em patologias que causam inflamação de forma aguda do que em MTC (Garrett *et al.*, 2007). A infiltração da medula óssea é raramente diagnosticada e tende a ser observada em animais com recidivas ou com a progressão da doença (Marconato *et al.*, 2008).

A confirmação citológica de metastização à distância está associada a uma diminuição significativa da sobrevida média (Stefanello *et al.*, 2009). Um estudo indica que a sobrevida de cães com MTC reduz para metade no caso de haver presença de metastização para o baço, fígado ou ambos (média de 100 versus 291 dias em cães sem metastização) (Book *et al.*, 2011). A realização rotineira de punção a vísceras que à ecografia se apresentam normais é uma prática controversa entre os autores, sendo que alguns defendem a sua realização (Finora *et al.*, 2006; Seguin *et al.*, 2006) e outros não (Stefanello *et al.*, 2009). Um estudo recente indica que 50% dos animais com metastização à distância confirmada citologicamente não demonstraram alterações ecográficas dos órgãos afetados, o que reforça a importância da realização rotineira de PAAF ecoguiada ao baço e fígado para o correcto estadiamento clínico do MTC, sobretudo em animais com MTC indiferenciados (Book *et al.*, 2011).

#### 2.4.1.1. Classificação do estágio clínico

O principal sistema de estadiamento do MTC canino atualmente aceite é o da Organização Mundial de Saúde (World Health Organization - WHO) para Mastocitomas (tabela 1) (Owen, 1980).

**Tabela 1 - Sistema de estadiamento clínico proposto pela Organização Mundial de Saúde (Owen, 1980) para Mastocitomas (adaptado de London & Thamm, 2013).**

Estadio	Descrição
I	Um tumor confinado à derme, sem envolvimento do linfonodo regional. 1. Sem sinais sistêmicos; 2. Com sinais sistêmicos.
II	Um tumor confinado à derme, com envolvimento do linfonodo regional. 1. Sem sinais sistêmicos; 2. Com sinais sistêmicos.
III	Múltiplos tumores dérmicos; Tumores infiltrativos de grandes dimensões, com ou sem envolvimento do linfonodo regional. 1. Sem sinais sistêmicos; 2. Com sinais sistêmicos.
IV	Qualquer tumor com metástases à distância ou recorrente com metástases (incluindo o possível envolvimento da medula óssea, sangue periférico ou linfonodos)

Alguns estudos têm vindo a relatar inconsistências neste sistema de estadiamento, nomeadamente na atribuição de um pior prognóstico a animais que apresentem MTC múltiplos (estadio III), sendo que um estudo refere uma percentagem de mortalidade muito semelhante entre os estadios I e III, de 18% e 16% respectivamente (Murphy *et al.*, 2006), e atribuiu um pior prognóstico a MTC sinalizados como estadio II, tendo estes apenas 431 dias de sobrevida quando comparado com os 520 dias de sobrevida dos animais com estadio III. O'Connell & Thomson (2013), registou uma percentagem de 67% de metastização em animais com estágio III e com, no mínimo, um dos nódulos identificados como grau III. Também a ter em conta, a metastização para os linfonodos regionais está também associada a um pior prognóstico. Krick *et al.*, (2009) refere um tempo de sobrevida de cerca de 6 anos para o estágio I e inferior a um ano para o estágio II.

## 2.5. Fatores de Prognóstico

### 2.5.1. Grau histológico

Tal como referido anteriormente o grau histológico é o fator de prognóstico mais importante nos MTC (Blackwood *et al.*, 2012). Existem dois sistemas de classificação do grau histológico, o de Patnaik e o de Kiupel (Patnaik *et al.*, 1984; Kiupel *et al.*, 2011).

Segundo o sistema de Patnaik, são distinguidos três graus histológicos:

MTCC de Grau I: bem diferenciado, normalmente alopecico, único, de crescimento lento e tendencialmente detetado meses antes da primeira consulta. Localizado na derme e espaços interfoliculares, com células redondas e citoplasma bem definido com grânulos médios, núcleo redondo e cromatina condensada, organizado em fileiras ou pequenos clusters celulares, não se observam mitoses, edema e necrose mínimos ou ausentes; está descrita uma taxa de metastização inferior a 10% dos casos (Patnaik *et al.*, 1984; Blackwood *et al.*, 2012). O tempo médio de sobrevida descrito após extirpação cirúrgica é superior a 80 semanas segundo Murphy *et al.* (2004), estudo que também reporta que todos os cães estavam vivos após um ano.

MTCC de Grau II: grau de diferenciação intermédio. Pode haver infiltração da derme, tecido subcutâneo e musculatura bem como tecidos circundantes, com células que vão desde redondas a ovóides, com algum pleomorfismo, podendo estar presentes células gigantes e de estrutura fusiforme; o citoplasma é bem diferenciado na maioria das células, já se denotam grânulos de maior diâmetro e hipercromáticos juntamente com grânulos finos e quase imperceptíveis, núcleo redondo com cromatina dispersa com observação de um nucléolo duplo em algumas células; células organizadas em grupos com um estroma fino e fibrovascular, tornando-se possível a observação de algumas mitoses (0-2 por campo ótico) e áreas de edema e necrose; está descrita uma taxa de metastização em 5 a 22% dos casos (Patnaik *et al.*, 1984; Blackwood *et al.*, 2012). O tempo médio de sobrevida descrito após extirpação cirúrgica de MCT de grau II pelo estudo de Murphy *et al.* (2004) também foi superior a 80 semanas e 92% dos cães estavam vivos após um ano.

MTCC de Grau III: pouco diferenciado de crescimento rápido, com possível ulceração, prurido e presença de nódulos satélite ou metástases, com sintomatologia sistémica já presente, incluindo linfadenomegália e sinais gastrointestinais (GI). Pode substituir por completo o tecido subcutâneo e tecidos circundantes em profundidade. As suas células vão de redondas a fusiformes, com pleomorfismo demarcado, citoplasma mal definido com grânulos pequenos ou indistinguíveis, núcleo vesiculado com um ou vários nucléolos proeminentes, presença de células gigantes e multinucleadas, organizadas em fileiras com estroma espesso e fibrovascular. Observam-se várias mitoses (3-6 por campo

ótico) e é comum a presença de edema, hemorragia e necrose; está descrita uma taxa de metastização em até 80% dos casos (Patnaik *et al.*, 1984; Blackwood *et al.*, 2012). Nestes casos, Murphy *et al.* (2004) descreveram um tempo médio de sobrevida após extirpação cirúrgica de 40 semanas e apenas 46% dos cães estavam vivos após um ano.

O envolvimento dos linfonodos, a presença de múltiplos nódulos de crescimento rápido, prurido/inflamação, ulceração ou presença de sintomatologia sistémica são característicos de mastocitomas e com um prognóstico mais reservado (Patnaik *et al.*, 1984; Book *et al.*, 2011).

O sistema de Patnaik é um dos mais usados para obtenção do grau histológico, no entanto a subjectividade (aumentando a variabilidade entre avaliações histopatológicas), especialmente na atribuição dos graus I e II (menos de 64% de concordância entre os patologistas) e o facto de só poder ser usado em MTC cutâneos conduziram à sua reformulação (Miller *et al.*, 2014). Em 2011, Kiupel *et al.*, descreveram um sistema de classificação incluindo apenas dois graus histológicos (grau baixo e grau elevado). Este sistema tem em conta as características morfológicas das células neoplásicas (como cariomegalia, o padrão da cromatina, a presença de nucléolos e de células multinucleadas) e o índice mitótico (Kiupel *et al.*, 2011). Este novo sistema de classificação do grau histológico permitiu obter uma consistência de 96,8% entre os avaliadores, bem como correlacionar a sobrevida média com mortalidade, tendo os MTCC de baixo grau uma média de 2 anos de vida após diagnóstico e apenas 5% de mortalidade e os de grau elevado uma média inferior a 4 meses e 90% de mortalidade, sendo o risco de metastização de 20% e 70% respetivamente (Kiupel *et al.*, 2011).

Não obstante, o grau histológico por si só não é suficiente para prever o comportamento biológico de cada MTCC (Sabattini *et al.*, 2015). Stefanello *et al.*, (2015) determinaram que, de acordo com os critérios propostos por Kiupel *et al.*, 14,9% dos cães com MTCC de baixo grau apresentavam metástases. Idealmente devem ser realizados exames a nível molecular através de imunohistoquímica e reacção em cadeia da polimerase (PCR) de forma a identificar, respectivamente, marcadores de proliferação e mutações no c-kit, que permitem melhorar a previsão do prognóstico dos MTCC caninos (Casagrande *et al.*, 2013).



### **2.5.2. Localização**

A localização do tumor pode também ser um indicador de prognóstico. A presença de um MTCC em regiões mucocutâneas (vulva, prepúcio, cavidade oral) está associada a um grau mais elevado e uma menor sobrevida (Bahrami *et al.*, 2014; Garrett, 2014). Os MTCC localizados em regiões de mucosa (região nasal, junção mucocutânea perioral e mucosa oral) têm um comportamento biológico mais agressivo, sendo que a infiltração dos linfonodos regionais é comum (Hillman *et al.*, 2010), tendo um estudo estimado uma percentagem de 55% de metastização nos linfonodos regionais (Elliott *et al.*, 2013). Tem sido descrito na bibliografia que MTCC presentes na região perineal e/ou inguinal apresentam um pior prognóstico, havendo autores que descrevem uma sobrevida média de 4,2 meses para cães com nódulos localizados na região prepucial e/ou escrotal (Sfiligoi *et al.*, 2005). No entanto, existe alguma controvérsia, dado que outros autores referem uma sobrevida média de 37 meses para cães com MTCC localizados na região perineal/inguinal (revisto por Garrett, 2014).

Nódulos subcutâneos têm vindo a ser associados com um bom prognóstico e baixas percentagens de metastização (4%) e uma mortalidade inferior a 10% (Thompson *et al.*, 2011a). Também em estudo está a capacidade de prognóstico dos marcadores de proliferação quando aplicados a estes MTC (Thompson *et al.*, 2011b). É também referido na literatura que qualquer MTC que afete o fígado, baço, intestinos ou medula óssea diminui drasticamente a sobrevida da maioria dos cães afetados (Blackwood *et al.*, 2012; Kiupel, 2017).

### **2.5.3. Marcadores de Proliferação Celular**

Nenhuns dos fatores acima mencionados (raça, género, idade, localização) são por si só capazes de prever o comportamento biológico de um MTC ou a sua resposta a um determinado tratamento. Por este motivo, têm vindo a ser estudados marcadores de proliferação específicos para auxiliar na obtenção de um prognóstico mais fiável (Vascellari *et al.*, 2013; Garrett, 2014).

#### **2.5.3.1. Índice Mitótico**

O índice mitótico é o marcador mais explorado sendo até um dado acrescido ao relatório histopatológico de muitos laboratórios e traduz-se pelo número de mitoses observadas por 10 campos óticos (a uma ampliação de 400x) (Blackwood *et al.*, 2012; Garrett, 2014). Tem vindo a ser associado ao grau histológico bem como a sobrevida destes

doentes (Hume *et al.*, 2011). Um artigo, ao aplicar os parâmetros de Patnaik *et al.* (1984), refere que, independentemente do grau, para um número de mitoses  $\leq 5$  por 10 campos óticos a sobrevida era de 70 meses enquanto que os doentes com MTCC com um índice mitótico  $> 5$  tinham sobrevida de apenas 2 meses (Romansik *et al.*, 2007). Um outro estudo, realizado em MTCC de grau II, refere uma sobrevida média de 3 meses quando o índice mitótico é  $>7$  mitoses por 10 campos óticos e que em MTCC com índice mitótico  $\leq 7$  têm uma sobrevida média de 15 meses (Elston *et al.*, 2009). Para além dos parâmetros usados pelos diferentes artigos para a avaliação do índice mitótico serem diferentes (Patnaik *et al.*, 1984; Kiupel *et al.*, 2011), existe também uma variabilidade na área atribuída a uma ampliação de 400x, que pode ser substancialmente diferente entre microscópios, tornando difícil a interpretação dos resultados entre os artigos. Assim sendo seria importante que todos os estudos acerca de marcadores de proliferação no futuro discriminassem a área analisada através do auxílio de um micrómetro (Meuten *et al.*, 2016)

#### **2.5.3.2. Ki67 e AgNORS**

Ki67 é uma proteína de núcleo, usada para identificar células ativas em qualquer fase do ciclo celular, não estando presente em células que não estão a ciclar (Webster *et al.*, 2007; Vascellari *et al.*, 2013). A sua sobre-expressão está associada a um aumento da mortalidade e da probabilidade de haver recidivas e/ou mestastização independentemente do grau (Scase *et al.*, 2006). Um estudo indica que o índice mitótico e a expressão de Ki67 permitem aferir com eficácia o tempo de sobrevida independentemente do grau (Berlato *et al.*, 2013). Scase *et al.* (2006), um estudo de índice de marcação de Ki67 (% de células neoplásicas que expressam Ki67) em MTCC de grau II concluiu que para um índice de marcação  $<1,8$ , 90% dos animais se encontrava vivo após um ano e 77% após 3 anos, enquanto que para um índice de marcação  $>1,8$  apenas 43% dos animais se encontrava vivo e 21% após 3 anos. Um outro refere que a mortalidade é até 8 vezes superior em cães com MTCC com um índice de Ki67  $\geq 10,6$ , quando comparado com animais que apresentavam valores inferiores (Vascellari *et al.*, 2013).

As regiões organizadoras nucleolares (AgNORS), são subestruturas nucleolares que se associam a proteínas nucleares e que se encontram envolvidas por RNA ribossomal. As AgNORS demonstraram ter um bom valor de prognóstico do comportamento biológico do MTC, uma vez que a quantidade de AgNORS presentes no núcleo permite estimar o ritmo relativo com que as células evoluem durante o ciclo celular (Scase *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2007; Webster *et al.*, 2007). É aceite que quanto menor o seu índice, menor a probabilidade de um MTCC recorrer (Smith *et al.*, 2015; Sledge *et al.*, 2016). Scase *et al.* (2006) referiram

que para um valor de 4 AgNORS/célula neoplásica, houve 66% de mortalidade nas 17 primeiras semanas do estudo.

A contagem de AgNORS e Ki67 permite estimar a fracção de crescimento das neoplasias através da determinação dos índices de proliferação celular (Smith *et al.*, 2015). Está descrito que o valor combinado de AgNORS e Ki67 (>54/por célula neoplásica) bem como o valor de Ki67 (>23/por célula neoplásica) está relacionada com um pior prognóstico, nomeadamente com elevadas taxas de mortalidade (60%) e apresentando também um maior risco de recorrer (Webster *et al.*, 2007 revisto por Sledge *et al.*, 2016). Outros autores demonstraram, em MTCC de grau II, que cães com MTCC com uma contagem baixa de AgNORS e de Ki67 tiveram percentagens de recidiva baixas (24%) mesmo nos casos removidos com margens incompletas (Smith *et al.*, 2015).

#### **2.5.4. Padrão de expressão imunohistoquímico do c-Kit**

Os padrões de expressão celular do c-Kit determinados por imunohistoquímica podem ser um importante complemento aos sistemas de prognóstico já existentes, uma vez que a sua localização citoplasmática pode estar relacionada com o aumento da proliferação celular independentemente do grau (Webster *et al.*, 2006; Webster *et al.*, 2007; Webster *et al.*, 2008). Um estudo recente refere que cães de raça Boxer com MTCC com padrão imunohistoquímico citoplasmático focal (padrão II) ou difuso (padrão III) combinado com a sobre-expressão de Ki67 apresentam uma sobrevida média de apenas 14 meses quando comparado com os cães que apresentavam um padrão perimembranar (padrão I) (Fonseca-Alves *et al.*, 2015). As mutações no c-Kit em MTC referidas anteriormente, foram associadas a um maior risco de recorrência local, metastização e uma maior mortalidade (Webster *et al.*, 2006; Webster *et al.*, 2008), o que sugere que MTC que expressem estas mutações têm um comportamento biológico mais agressivo (London & Thamm, 2013). Desta forma, vários autores já incluíram a averiguação da presença de mutações no c-kit através de PCR como um dos testes de prognóstico especialmente em MTCC de grau II, para recomendar ou não quimioterapia mesmo que sem metástases e com margens limpas (revisto por Costa, 2015).

Idealmente a pesquisa e conhecimento dos marcadores de proliferação acima referidos permitiria ao médico veterinário aferir qual a terapêutica mais indicada a seguir, especialmente em MTC de grau intermédio cujo prognóstico é difícil devido ao seu comportamento biológico instável (Sledge *et al.*, 2016).

## **2.6. Modalidades Terapêuticas**

### **2.6.1. Extirpação cirúrgica do tumor**

O tratamento implementado vai depender da localização do MTCC, do grau de diferenciação, do estágio clínico, da sintomatologia, e da presença de doenças concomitantes. O tratamento de eleição é a excisão cirúrgica, se esta for possível ou viável (Kiupel, 2017). Secundariamente é necessário definir se o tratamento da doença local é suficiente, ou se é necessário administrar tratamento adjuvante para controlo/prevenção da metastização sistémica (London & Thamm, 2013). A exérese do nódulo deve ser realizada idealmente com amplas margens cirúrgicas, bem como a exérese do linfonodo regional caso apresente evidência (ou suspeita) de metastização (Krick *et al.*, 2009). Está descrito que apesar da existência de metastização do gânglio regional, a extirpação cirúrgica do nódulo primário, ainda que sem margens cirúrgicas completas, aumenta significativamente a sobrevida destes doentes (Miller *et al.*, 2014).

A manipulação do MTCC durante a cirurgia pode promover a posterior desgranulação dos mastócitos e hiperhistaminémia, despoletando a ocorrência do aumento espontâneo do nódulo, hemorragias e hipotensão, pelo que está recomendado o uso de bloqueadores dos receptores da histamina H1 e/ou H2, bloqueadores da bomba de prótons (como a famotidina o omeprazol e a difenidramina) de forma profiláctica ou como tratamento sintomático para prevenir a ocorrência dos mesmos, sobretudo em tumores de elevado grau ou múltiplos (Welle *et al.*, 2008; Carlsten *et al.*, 2012; Garrett, 2014; Burton *et al.*, 2015).

Até há alguns anos atrás, as margens cirúrgicas recomendadas para a excisão de um MTCC de forma completa eram de 2-3 cm lateralmente e uma fáscia muscular em profundidade (revisto por Dank, 2016). Atualmente é aceite que as margens cirúrgicas possam ser adaptadas ao grau do MTCC, o que é dificultado pelo facto de a maioria das cirurgias serem realizadas apenas com o diagnóstico obtido por citologia aspirativa, ou seja, sem uma avaliação histopatológica do grau (Pratschke *et al.*, 2013; Risselada *et al.*, 2015). Um estudo recente indica que para a vasta maioria de MTCC de grau I e II, é suficiente fazer a remoção cirúrgica com margens laterais de 2 cm e uma fáscia muscular (Fulcher *et al.*, 2006), outro artigo verificou que não houve recidivas a nível local em MTCC cujas margens cirúrgicas foram menores que 1 cm lateralmente e 4 mm em profundidade em MTCC de grau I e II (Schultheiss *et al.*, 2011). Este é um tópico importante principalmente em animais que apresentem MTC múltiplos, de grandes dimensões ou localizados nas extremidades, cuja extirpação completa pode ser difícil e exigir cirurgia reconstrutiva (Pratschke *et al.*, 2013). Nestes casos está recomendado realizar uma biopsia incisional para obter o grau

histológico para posterior planeamento cirúrgico. Para MTCC de grau III, as margens cirúrgicas devem ser de 2-3 cm devido às suas características invasivas e incluir também tratamento multimodal com quimioterapia, radioterapia, e/ou inibidores da tirosina cinase (TKI's) devido à alta taxa de metastização (Kiupel, 2017). A amputação em casos de MTCC localizados nas extremidades é uma opção terapêutica que pode levar a um défice funcional ou estético, o que afeta diretamente o bem-estar ou a função do animal, no caso de cães de trabalho ou de concurso. No entanto, permite a obtenção de margens cirúrgicas completas, e pode ser o tratamento mais económico para o proprietário (London & Thamm, 2013).

### **2.6.2. Radioterapia**

A radioterapia (RT) é uma terapêutica direcionada para o controlo local da doença, nomeadamente de doença microscópica em margens cirúrgicas incompletas e para o tratamento local após extirpação de linfonodos regionais metastizados, casos em que quimioterapia tem resultados aquém do desejado (Welle *et al.*, 2008; Donnelly *et al.*, 2013). A RT não deve ser usada como única forma de tratamento em nódulos de grandes dimensões devido quer aos efeitos paraneoplásicos causados pela desgranulação dos mastócitos, quer ao facto de os MTCC de grandes dimensões terem uma maior probabilidade de possuir tecido radio-resistente (Albrecht *et al.*, 2007; Dank, 2016). Um estudo recente refere que o uso da RT de forma paliativa permite melhorar a qualidade de vida de animais com doença local avançada ou metastização (Melissa *et al.*, 2016). Os autores aplicaram esta terapia de forma localizada em 8 cães com doença macroscópica e/ou microscópica em tumores indiferenciados e reportaram que a RT teve uma capacidade de evitar a progressão de doença na ordem dos 50%, no entanto o seu efeito durou apenas 31 dias (Melissa *et al.*, 2016).

### **2.6.3. Quimioterapia**

A quimioterapia é comumente usada como terapêutica adjuvante sistémica na tentativa de impedir a metastização ou combater a mesma. Tem também como aplicações os casos de mastocitose sistémica ou como terapia neo-adjuvante em neoplasias cuja excisão completa é impossível (seja pela localização, seja por comprometimento das estruturas circundantes) (Dank, 2016). Normalmente a quimioterapia adjuvante é recomendada em tumores indiferenciados em que existe a presença de fatores de prognóstico desfavorável que indicam uma maior probabilidade de metastização. (Webster *et al.*, 2008). A escolha do citotóxico apropriado pelo Médico Veterinário deve ser feita com base na eficácia (ou seja percentagem de resposta) contra a neoplasia em questão, na

toxicidade da substância ativa e no estado hemodinâmico e físico do animal (London & Thamm, 2013). As principais substâncias usadas atualmente no tratamento de MTCC são a vimblastina (VBL) e a lomustina em associação com a prednisolona.

#### **2.6.3.1. Protocolo de vimblastina com prednisolona**

A VBL é um citotóxico da classe dos alcalóides da vinca que interfere com a formação do fuso cromático impedindo a replicação celular, sendo um dos quimioterápicos mais usados no tratamento dos MTC (Bailey *et al.*, 2008). O protocolo de VBL/Prednisolona seguido pela maioria dos artigos é iniciado duas semanas após a intervenção cirúrgica, e consiste na administração de prednisolona por via oral (PO) numa dose de 2.0 mg/kg/dia PO e feito o desmame de forma lenta e contínua até ao final das 12 semanas de tratamento, e da VBL em bólus endovenoso (EV) de 2.0 mg/m<sup>2</sup> semanalmente durante 4 semanas e depois cada 15 dias durante mais 4 tratamentos (Webster *et al.*, 2008; revisto por London & Thamm, 2013 e Garrett, 2014). As taxas de resposta global (resposta completa e/ou parcial) descritas para este protocolo são de 12% (Rassnick *et al.*, 2008) a 30,8% (Vickery *et al.*, 2008), com percentagens de toxicidade em 4,4 a 8% dos doentes. Outros autores referem uma taxa de resposta completa (RC) em 33% dos doentes e de resposta global em 47% com 154 dias de duração (estudo com 17 cães) (Thamm *et al.*, 1999). Está descrita uma maior taxa de resposta para doses mais elevadas de VBL, no entanto estas estão também associadas a uma maior toxicidade (Bailey *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2008). Camps-Palau *et al.* (2007) descreveram que o uso de ciclofosfamida (CCF) numa dose de 200-250mg/m<sup>2</sup> a cada 3 semanas (PO ou EV) em associação com o protocolo de VBL permite obter taxas de resposta global de 64%, no entanto o tempo de duração de resposta foi baixo (cerca de 78 dias) e registou-se uma toxicidade mais elevada (41%) pelo que este protocolo não é habitualmente usado.

#### **2.6.3.2. Protocolo de lomustina com prednisolona**

A 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosureia (CCNU) conhecida como lomustina, é um agente alcalinizante da subclasse nitrosureia. Os seus principais efeitos secundários são neutropénias severas e hepatotoxicidade (Hosoya *et al.*, 2009b). Um estudo recente aplicado em animais com MTCC indiferenciados (com ou sem presença de metastização) reporta uma RC ao tratamento apenas com lomustina (70 mg/m<sup>2</sup> PO a cada 3 semanas) em 23% dos doentes (Vail *et al.*, 2012). O seu uso combinado com prednisolona é normalmente o tratamento de segunda escolha caso o protocolo de VBL + prednisolona não demonstre resultados (Nelson *et al.*, 2014). Um estudo que incidiu sobre MTCC de grau II reporta um

intervalo livre de doença de cerca de 2 anos em 77% dos animais sujeitos ao protocolo CCNU + prednisolona, a uma dose de 60 mg/m<sup>2</sup> (a cada 3 semanas) e 40 mg/m<sup>2</sup> SID (nos primeiros 7 dias) respetivamente, após extirpação cirúrgica e margens incompletas (Hosoya *et al.*, 2009a). No entanto, o estudo não engloba os animais com recidiva local e 75% dos animais apresentavam um aumento significativo das enzimas hepáticas (Hosoya *et al.*, 2009a).

De acordo com Rassnick *et al.* (2010), o protocolo VBL e prednisolona + CCNU mostra resultados promissores; este estudo, que incluiu 17 cães, demonstrou uma taxa de RC em 29% dos doentes (duração de 141 dias) e de resposta parcial (RP) em 35% dos doentes (duração de 66 dias). O protocolo de tratamento consistiu na administração alternada (a cada duas semanas) de VBL (dose de 3,5mg/m<sup>2</sup>) e CCNU (dose de 70mg/m<sup>2</sup>) com prednisolona (dose de 2mg/kg/dia nos primeiros 14 dias). No entanto 33% dos animais demonstraram neutropénia severa e 28% toxicidade hepática (Rassnick *et al.*, 2010). Anteriormente Cooper *et al.* (2009), sem recorrer à administração de prednisolona e mantendo a dose de VBL em 2.0 mg/m<sup>2</sup>, obteve uma taxa de resposta global de 57% (RC em 24% e RP em 32% dos doentes, com duração média da resposta de 30 semanas), reportando uma toxicidade de 54% que se traduzia maioritariamente por neutropénias (Cooper *et al.*, 2009).

#### **2.6.3.3. Protocolo de clorambucil**

O protocolo de clorambucil (5mg/m<sup>2</sup> PO a cada 48 horas), juntamente com prednisolona (40mg/m<sup>2</sup> SID nos primeiros 14 dias), que englobou 23 cães com doença macroscópica, demonstrou uma taxa de resposta global de 38% (com sobrevida de 140 dias, RC em 14% e RP de 29%), não havendo registo de toxicidade associada à sua administração (Taylor *et al.*, 2009, revisto por Dank, 2016).

#### **2.6.4. Inibidores de tirosinas cinases**

Demonstrada a importância que as mutações do receptor KIT têm na origem de alguns MTCC, desenvolveram-se medicações dirigidas contra este alvo molecular. As duas desenvolvidas para medicina veterinária foram o mesilato de masitinib (Masivet<sup>®</sup>), e o fosfato de toceranib (Palladia<sup>®</sup>).

#### **2.6.4.1. Mesilato de Masitinib**

O Masivet® é um inibidor de tirosina cinase que inibe a atividade dos receptores KIT, PDGFR $\alpha$  e  $\beta$  e a cinase citoplasmática Lyn (Dubreuil *et al.*, 2009; London, 2013). É administrado por via oral na dose recomendada de 12,5 mg/kg SID. A sua eficácia varia de 25 a 61% no tratamento de MTC. Os principais efeitos secundários registados são hepatotoxicidade, proteinúria, neutropénia, anemia, hipoalbuminémia, e efeitos GI (Smrkovski *et al.*, 2013). Um estudo refere a administração combinada com prednisolona, no entanto esta combinação, apesar de demonstrar uma percentagem de resposta de 77%, apresenta toxicidades GI e hepáticas elevadas (Grant *et al.*, 2016). Miller *et al.* (2014) comparou a sobrevida média de cães (com MTCC de grau II extirpados e sem sinais de metastização) que realizaram o protocolo de VBL e prednisolona (2.0 mg/m<sup>2</sup> e 2.0 mg/kg respetivamente) com os que fizeram Masivet® (11-14 mg/kg SID) e verificaram o primeiro grupo apresentou uma sobrevida significativamente superior (1946 dias) à dos segundos (369 dias). Também observaram que a sobrevida foi superior em animais que apresentavam MTCC de grau III e realizaram quimioterapia ou Masivet® após extirpação cirúrgica quando comparado com os que realizaram o protocolo quimioterápico sem extirpação do nódulo (278 e 91 respetivamente) (Miller *et al.*, 2014).

#### **2.6.4.2. Fosfato de toceranib**

O Palladia® actua sobre mais receptores do tipo tirosina cinase do que o masitinib (incluindo também o KIT, o VEGFR 1 e 2, e o PDGFR $\alpha$  e  $\beta$ , entre outros), tendo um espectro de acção mais alargado (London, 2013). A dose de tratamento do Palladia® oscila entre os 2,75-3,25 mg/kg, sendo administrado por via oral, a cada 48 horas, até remissão completa do MTCC (London *et al.*, 2009; London *et al.*, 2011). Os principais efeitos secundários causados pelo Palladia® são principalmente GI, como vómitos e diarreias, podendo também provocar anorexia, letargia, e em muitos casos neutropénia (Smrkovski *et al.*, 2013; Grant *et al.*, 2016). Um estudo refere que o Palladia® enquanto agente activo único tem uma resposta global de cerca de 42,8% sobre MTCC, no entanto, está relatada a resistência progressiva a esta nova molécula, pensando-se que seja devido a novas mutações, à sobre-expressão de receptores KIT para a dose tolerável de substância ativa ou à criação de novas vias de sinalização para as quais a molécula não apresenta efeito (London *et al.*, 2009). O seu uso combinado com prednisolona está a ser estudado (Grant *et al.*, 2016)



## **2.6.5. Tratamentos combinados**

### **2.6.5.1. Protocolos combinados de fosfato de toceranib com vimblastina ou lomustina**

Estão atualmente a ser realizados estudos no âmbito de conjugar o espectro de acção do Palladia® com substâncias quimioterápicas, como é o caso da combinação com a VBL. Um dos estudos realizados indica que a VBL tem de ser administrada em doses menores às anteriormente descritas ( $1,6\text{mg}/\text{m}^2$  a cada duas semanas) devido aos efeitos secundários de toxicidade (Robat *et al.*, 2011). A resposta global a este protocolo foi de 71,4% (RC de 14% e RP de 57%, sendo o intervalo livre de doença de 15 e 12 semanas respetivamente). No entanto, este valor, bem como o intervalo livre de doença precisa de ser confirmado com mais estudos direccionados à eficácia contra MTCC (Robat *et al.*, 2011).

Existe ainda outro estudo sobre a combinação de Palladia® e lomustina. Ambos os fármacos são administrados oralmente, o que pode ser uma mais-valia em termos económicos e de cumprimento dos proprietários. A lomustina foi administrada numa dose de  $50\text{ mg}/\text{m}^2$  a cada três semanas e o Palladia® numa dose de  $2,75\text{ mg}/\text{kg}$  às segundas, quartas e sextas-feiras, obtendo 46% de taxa de resposta global (4 animais apresentaram RC e 15 uma RP, tendo reportado uma sobrevida média de apenas 53 dias) e 82,9% dos cães desenvolveram algum grau de neutropenia como o principal efeito secundário (Burton *et al.*, 2015). Neste estudo foi também usada prednisolona na dose de  $1\text{mg}/\text{kg}$  em dias alternados com o Palladia®. Este protocolo aparentemente demonstrou bons resultados contra MTCC (Burton *et al.*, 2015) quando comparado com o efeito individual da lomustina (23%, resposta global) (Vail *et al.*, 2012).

No entanto, são necessários mais estudos para validar a eficácia destes protocolos (Palladia®+VBL e Palladia®+lomustina) no tratamento do MTCC.

### **2.6.5.2. Protocolos combinados de fosfato de toceranib com prednisolona e radioterapia hipofracionada**

O Palladia® também está a ser estudado com outras modalidades terapêuticas, nomeadamente a combinação com prednisolona PO, e em associação com RT hipofracionada. Uma vez que está comprovado que, *in vitro*, a activação do receptor KIT confere resistência intrínseca à radiação, pensou-se então que a sua inibição podia reverter este fenómeno (Carlsten *et al.*, 2012). O protocolo teve uma resposta global de 76,4% (com uma RC de 58,8% e RP de 17,6%, com um intervalo livre de doença médio de 316 dias) no tratamento de MTCC cuja excisão não era possível e/ou apresentassem metastização

(Carlsten *et al.*, 2012). No entanto, o período de tempo sem progressão de doença foi curto, e a dose do Palladia® teve de ser diminuída e/ou a administração interrompida em muitos dos animais devido a episódios de hepatotoxicidade (observados em 80% dos cães que iniciaram o tratamento com Palladia®) (Carlsten *et al.*, 2012).

#### **2.6.5.3. Associação entre fosfato de toceranib com piroxicam**

Tem-se igualmente vindo a estudar o uso adjuvante de anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) no tratamento de MTC (Vascellari *et al.*, 2013). A sobre-expressão de COX-2 numa grande variedade de tumores (Nardi *et al.*, 2011) pode sugerir que o piroxicam ao inibir as cicloxigenases (COX-1 / COX-2), pode ter propriedades antineoplásicas para além de anti-inflamatórias (Vascellari *et al.*, 2013). Um estudo sobre a administração do piroxicam (0.3 mg/kg/dia) combinado com Palladia® (3,25mg/kg a cada 48 horas) mostrou uma taxa de resposta global de 48%, sendo que 76% dos animais não demonstraram quaisquer efeitos GI (Chon *et al.*, 2011). No entanto, os autores recomendaram que, para evitar os efeitos GI a longo prazo, a toma do piroxicam passasse a ser alternada com a do Palladia® (Chon *et al.*, 2011). Este estudo foi de fase 1 para avaliar a toxicidade da combinação das duas substâncias ativas em diversos tipos de tumores, pelo que são necessários mais estudos para avaliar a taxa de sucesso desta terapêutica em MTCC.

#### **2.6.6. Corticoterapia**

O uso de glucocorticóides (GLC), como por exemplo a prednisolona, como terapia neoadjuvante sistémica, está descrito principalmente para tumores de grandes dimensões, cuja excisão imediata não é possível. O seu mecanismo de acção não é completamente entendido mas está comprovado que tem efeitos sobre MTCC (Stanclift & Gilson, 2008). O intervalo de dose de prednisolona referido pelos autores encontra-se entre os 0.5 mg/kg e os 2.0 mg/kg. Esta é administrada até à necessária redução do nódulo para obtenção de margens cirúrgicas completas ou é usada como terapia adjuvante até ao final do protocolo quimioterápico (Garrett, 2014).

## **2.6.7. Outras modalidades terapêuticas**

### **2.6.7.1. Hipertermia**

O efeito da hipertermia foi estudado por alguns autores no tratamento dos MTCC (Thrall & Dewhirst, 1985; Legorreta *et al.*, 1988). O aumento exponencial da temperatura leva à destruição da vasculatura, e a nível celular acidifica o meio, diminuindo as concentrações de oxigénio, provocando a morte celular. A hipertermia também torna as células mais radiosensíveis (Thrall & Dewhirst, 1985; Legorreta *et al.*, 1988 revisto por Blackwood *et al.*, 2012).

### **2.6.7.2. Eletroquimioterapia**

A eletroquimioterapia baseia-se na ação conjunta da administração local de citotóxicos (ex. bleomicina, cisplatina) em combinação com a indução de estímulos elétricos com um determinado comprimento de onda, o que induz a abertura de poros na membrana celular permitindo a fácil entrada das substâncias quimioterápicas para o interior das células levando à apoptose (Cemazar *et al.*, 2008; Kodre *et al.*, 2009). Idealmente não deve ser aplicada em MTCC com dimensões superiores a 1 cm, uma vez que a estimulação elétrica pode induzir a desgranulação dos MT o que leva a sintomatologia sistémica indesejada (Spugnini *et al.*, 2006; Kodre *et al.*, 2009). Um estudo recente sobre a administração da cisplatina em MTC (doença microscópica) com margens cirúrgicas incompletas, demonstrou uma eficácia de 78% sem sinais de recidiva durante um período médio de 1200 dias com efeitos secundários mínimos (caracterizados por edema local em 32% dos animais) (Spugnini *et al.*, 2011).

## **Capítulo 3 - Metodologia**

### **3.1. População estudada**

Este trabalho teve como objectivo estudar e descrever casos clínicos de mastocitomas cutâneos em cães e comparar protocolos de tratamento entre casos. A população estudada englobou cães acompanhados pelos médicos veterinários do HVST. Os dados estudados foram recolhidos no seguimento de consultas, tratamentos de internamento e procedimentos cirúrgicos realizados no HVST durante o período de 10 de Setembro de 2015 a 10 de Março de 2016.

### **3.2. Critérios de Selecção**

Neste estudo foram incluídos todos os cães com diagnóstico de mastocitoma, confirmado citológica e/ou histologicamente, que realizaram diferentes tipos de tratamento. Foram excluídos todos os casos clínicos que não realizaram nenhum tipo de terapêutica, somando no final 5 casos clínicos.

### **3.3. Recolha dos dados clínicos**

Todos os dados clínicos foram recolhidos com a supervisão dos médicos veterinários a exercer funções no HVST durante o período de estágio. Foi recolhida informação sobre resenha do animal (nome, idade, raça, género, estado reprodutivo), história clínica atual, passado médico e registados os dados do exame físico.

Todos os meios de diagnóstico complementares foram realizados com a autorização do(s) proprietário(s). Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados no HVST.

## Capítulo 4 – Descrição dos casos clínicos

### Caso Clínico Nº 1

O Ewok, canídeo da raça Caniche, de pelagem branca, macho inteiro criptorquídeo, com 4 anos de idade e 3,85kg de peso vivo (condição corporal 3/5), apresentou-se a consulta no dia 17 de Setembro de 2015 porque o tutor detetou um nódulo subcutâneo, na face lateral no membro torácico direito, meses antes. Referiu que não notou alterações no tamanho do nódulo, mas referiu que se encontra mais firme ao toque.

Era um animal de interior, com acesso a passeios regulares e não coabitava com outros animais. Tinha historial de problemas dermatológicos, gastrointestinais, reprodutores e oftalmológicos, no entanto não realizava qualquer medicação crónica. Apresentava a vacinação e restantes profilaxias atualizadas.

Os parâmetros do exame físico encontravam-se normais: temperatura de 38,4°C, pulso forte e síncrono, 111 batimentos por minuto (bpm) e 45 respirações por minuto (rpm); sem alterações na auscultação pulmonar mas na auscultação cardíaca detetou-se um sopro sistólico apical esquerdo ligeiro. Nada a denotar na palpação abdominal. O nódulo era subcutâneo e firme, bem delimitado e ligeiramente aderente aos tecidos subcutâneos, ventralmente à escápula direita, e apresentava cerca de 5,5 cm de diâmetro. Não apresentava ulcerações, nem dor à palpação. Não foram detetadas alterações na palpação dos linfonodos periféricos.

Como principais diagnósticos diferenciais considerou-se nódulos de origem neoplásica, inflamatória ou quística.

Como primeira abordagem diagnóstica, foi realizada uma punção aspirativa por agulha fina (PAAF) ao nódulo, que permitiu o diagnóstico citológico de mastocitoma bem diferenciado.

Após a explicação do diagnóstico, foi proposta a realização de exames complementares para o estadiamento clínico da referida doença neoplásica. Foram realizadas análises sanguíneas, nomeadamente hemograma e bioquímicas séricas (Tabela 1) tendo-se detetado uma ligeira neutrofilia. Foram igualmente realizadas radiografias torácicas (duas projecções) para exclusão de metástases ou afeção de outros órgãos com doenças concomitantes, bem como uma ecografia abdominal com o mesmo fim, não se detectando sinais de metastização.

A abordagem terapêutica proposta foi a extirpação cirúrgica após citoredução da neoplasia. Foi prescrito tratamento oral com prednisolona (Lepicortinolo® 5mg) na dose de 1 mg/kg/dia, dividida em duas tomas, (com respetivo desmame) e um protetor gástrico -

famotidina (na dose de 0,5 mg/kg BID), para evitar os potenciais efeitos causados pela desgranulação dos mastócitos.

**Tabela 2 - Hemograma realizado ao Ewok a 17/09/2015**

Análise	Valores de Referência	Resultado
WBC	6-17 ( $\times 10^9/L$ )	18.20 $\times 10^9/L$
Neutr.	3.62-12.30 ( $\times 10^9/L$ )	15.80 $\times 10^9/L$
Linf.	0.83-4.91 ( $\times 10^9/L$ )	1.43 $\times 10^9/L$
Mon.	0.14-1.97 ( $\times 10^9/L$ )	1.65 $\times 10^9/L$
Eos.	0.04-1.62 ( $\times 10^9/L$ )	0.07 $\times 10^9/L$
Bas.	0.00-0.12 ( $\times 10^9/L$ )	0.03 $\times 10^9/L$
%Neutro.	0.520-0.810 (%)	0.657%
%Linf.	0.120-0.330 (%)	0.155%
%Mon.	0.020-0.130 (%)	0.177%
%Eos.	0.005-0.100 (%)	0.008%
%Bas.	0.000-0.013 (%)	0.003%
RBC	5.10-8.50 ( $\times 10^{12}/L$ )	6.50 $\times 10^{12}/L$
HGB	110-190 (g/L)	153 g/L
HTC	33-56 (%)	44.2%
MCV	60-76 (fL)	92.4 fL
MCH	20-27 (pg)	32.0 pg
MCHC	300-380 (g/L)	346 g/L
RDW-CV	0.125-0.172 (%)	0.180%
RDW-SD	33.2-46.3 (fL)	45.4 fL
PLT	117-490 ( $\times 10^9/L$ )	182 ( $\times 10^9/L$ )
MPV	8.0-14.1 (fL)	9.3 fL
PDW	12.0-17.5 (%)	16.3%
PCT	0.9-5.8 (mL/L)	1.70 mL/L

No dia 21 de Setembro, iniciou-se tratamento oral para citoredução do mastocitoma, tendo o tutor, após informação das várias terapêuticas, optado pelo toceranib (Palladia®) na dose de 2,5 mg/kg, em dias alternados, sendo que nos dias de pausa era administrada prednisolona (na dose de 0.6 mg/kg/dia), mantendo a famotidina na dose e frequência prescritas anteriormente. O tutor foi avisado dos efeitos secundários de toxicidade gastrointestinal (GI) que têm sido descritos com o uso adjuvante de corticosteróides e Palladia®, e da necessidade de se realizar análises sanguíneas com alguma periodicidade. No mesmo dia foi ainda realizada a marcação dos limites tumorais na pele do animal, com marcador de acetato, para monitorização da sua dimensão e controlo de localização.

O Ewok apresentou-se à primeira consulta de reavaliação no dia 1 de Outubro, tendo-se verificado que o nódulo apresentava 4 cm de diâmetro. Uma semana depois (7 de Outubro), voltou a ser reavaliado e o nódulo media 3,7 cm de diâmetro. Ao exame físico o Ewok demonstrava ligeiro desconforto abdominal e o tutor referiu que as fezes estavam

pastosas e com muco, pelo que se iniciou tratamento com probiótico (1 saqueta de Fortiflora® SID durante, 5 dias).

Na reavaliação de 21 de Outubro, o nódulo apresentava 3,0 cm de diâmetro. Foram ainda realizadas bioquímicas séricas e hemograma (Tabela 2), tendo-se detetado apenas uma neutropénia ligeira. A dose e posologia do Palladia® foram mantidas, bem como a restante medicação. Agendou-se reavaliação dentro de uma semana, para realização de novas análises.

**Tabela 3 - Hemograma realizado ao Ewok a 21/10/2015**

Análise	Valores de referência	Resultados
WBC	6-17 ( $\times 10^9/L$ )	$6.0 \times 10^9/L$
Neutr.	<b>3.62-12.30 (<math>\times 10^9/L</math>)</b>	<b><math>2.7 \times 10^9/L</math></b>
Linf.	0.83-4.91 ( $\times 10^9/L$ )	$3.3 \times 10^9/L$
Mon.	0.14-1.97 ( $\times 10^9/L$ )	$1.00 \times 10^9/L$
Eos.	0.04-1.62 ( $\times 10^9/L$ )	$0.07 \times 10^9/L$
Bas.	0.00-0.12 ( $\times 10^9/L$ )	$0.03 \times 10^9/L$
%Neutro.	0.520-0.810 (%)	0.280%
%Linf.	0.120-0.330 (%)	0.235%
%Mon.	0.020-0.130 (%)	0.100%
%Eos.	0.005-0.100 (%)	0.008%
%Bas.	0.000-0.013 (%)	0.003%
RBC	5.10-8.50 ( $\times 10^{12}/L$ )	$4.78 \times 10^{12}/L$
HGB	110-190 (g/L)	153 g/L
HTC	33-56 (%)	44.2%
MCV	60-76 (fL)	92.4 fL
MCH	20-27 (pg)	32.0 pg
MCHC	300-380 (g/L)	359 g/L
RDW-CV	0.125-0.172 (%)	0.180%
RDW-SD	33.2-46.3 (fL)	60.5 fL
PLT	117-490 ( $\times 10^9/L$ )	$334 \times 10^9/L$
MPV	8.0-14.1 (fL)	9.3 fL
PDW	12.0-17.5 (%)	16.3%
PCT	0.9-5.8 (mL/L)	2.20 mL/L

No dia 4 de Novembro o Ewok foi reavaliado. Encontrava-se alerta e bem-disposto, com fezes e micções regulares e sem alterações. O nódulo apresentava 2,2 cm de diâmetro. Foram realizadas bioquímicas séricas e hemograma, sem alterações. Face à diminuição do tumor, foi agendada a sua extirpação cirúrgica. Iniciou-se o desmame da prednisolona, passando a fazer um quarto de comprimido QOD até ao dia da cirurgia e terminou a administração do Palladia® na véspera da cirurgia.

No dia 15 de Novembro, o nódulo apresentava 1,9 cm de diâmetro e foi realizada a sua exérese com margens cirúrgicas de cerca de 3 cm lateralmente, com uma fásia

muscular. O material extirpado foi enviado para análise histopatológica para diagnóstico e avaliação das margens cirúrgicas. A cirurgia decorreu sem complicações e o Ewok foi para casa com a seguinte medicação: cetoprofeno (Romefen® 5mg) na dose de 1 mg/kg SID, durante três dias; Amoxiciclina com ácido Clavulânico (Synulox® 250 mg) na dose de 15mg/kg BID, durante dez dias, famotidina (Lasa® 10mg) na dose e posologia previamente prescritas.

No dia 22 de Novembro, chegou o relatório de histopatologia: o nódulo, de 1,8 cm de diâmetro foi identificado como sendo um Mastocitoma de Grau II (de acordo com a classificação de Patnaik), apresentando um índice mitótico reduzido (<3/10 por campo óptico) e margens limpas em todo o seu perímetro (bem como em profundidade).

O Ewok realizou consultas mensais de rotina até Outubro de 2016, não tendo sido detetado nenhum outro nódulo até essa data.



## Caso Clínico Nº2

A Flapy, canídeo de raça Boxer, de pelagem branca, fêmea inteira com 11 anos de idade e 26kg de peso vivo (condição corporal 3,5/5), apresentou-se a consulta no dia 3 de Outubro de 2015, com queixas de vômitos e diarreia e devido ao aparecimento de um nódulo no joelho esquerdo.

Habitava numa quinta, coabitando com uma cadela inteira. Apresentava um historial de mastocitoma lateral ao joelho esquerdo removido cirurgicamente em 2013. Apresentava ainda múltiplos quistos sebáceos (diagnosticados previamente por citologia). Não estava a fazer nenhuma medicação.

Os parâmetros do exame físico encontravam-se normais. A temperatura era de 37,9°C, pulso forte e síncrono, 96 bpm e 35 rpm, e auscultação pulmonar e cardíaca sem alterações. O nódulo estava localizado lateralmente à articulação do joelho esquerdo, tinha uma consistência dura, era alopecico, bem limitado e não aderente aos tecidos. Não apresentava dor à palpação, nem estava quente ao toque e tinha cerca de 7 mm de diâmetro. Não se detetou nenhuma alteração na palpação dos linfonodos periféricos.

Como principais diagnósticos diferenciais considerou-se nódulo de origem neoplásica, inflamatória ou quística.

Como primeira abordagem diagnóstica foram realizadas radiografia torácica e abdominal (sem alterações significativas) e um hemograma (Tabela 3) que revelou uma neutrofilia. Foram também realizadas bioquímicas sanguíneas que avaliaram os parâmetros renais e hepáticos e que se apresentavam dentro dos valores normais.

Em conversa com o tutor, foi explicada a necessidade de se realizar uma PAAF ao nódulo e outros exames de diagnóstico, como uma ecografia abdominal, para que se pudesse proceder a um tratamento direccionado ao diagnóstico (relativamente aos sintomas GI). Foi iniciada a terapêutica para a sintomatologia apresentada, nomeadamente, Cerenia® (um antiemético para controlar os vômitos) na dose de 1mg/kg; ranitidina (um protector gástrico) na dose de 2mg/kg e Noroclav® (um antibiótico de largo espectro devido à neutrofilia demonstrada no hemograma causada, muito provavelmente, pela gastroenterite) na dose de 8,75mg/kg.

**Tabela 4 - Hemograma realizado à Flapy no dia 03/10/2015**

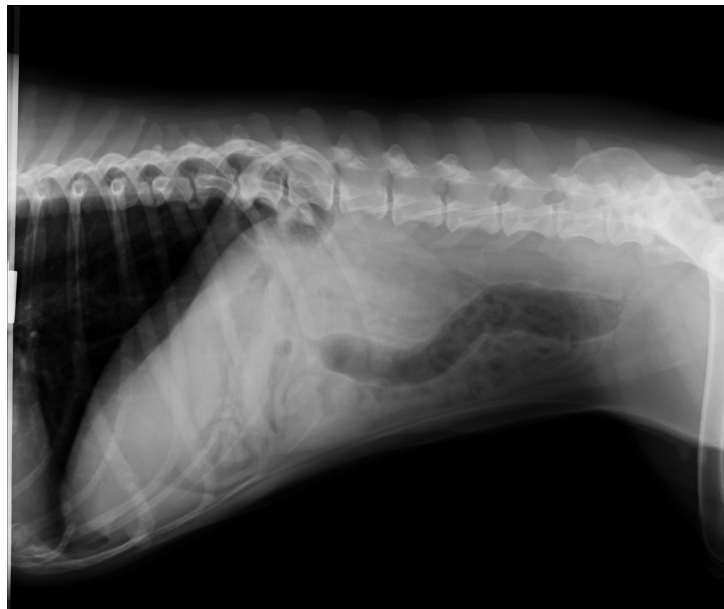
Análise	Valores de referência	Resultados
WBC	6-17 ( $\times 10^9/L$ )	18.80 $\times 10^9/L$
Neutr.	3.62-12.30 ( $\times 10^9/L$ )	17.70 $\times 10^9/L$
Linf.	0.83-4.91 ( $\times 10^9/L$ )	1.10 $\times 10^9/L$
Mon.	0.14-1.97 ( $\times 10^9/L$ )	0.3 $\times 10^9/L$
Eos.	0.04-1.62 ( $\times 10^9/L$ )	0.03 $\times 10^9/L$
Bas.	0.00-0.12 ( $\times 10^9/L$ )	0.01 $\times 10^9/L$
%Neutro.	0.520-0.810 (%)	1.119%
%Linf.	0.120-0.330 (%)	0.032%
%Mon.	0.020-0.130 (%)	0.045%
%Eos.	0.005-0.100 (%)	0.003%
%Bas.	0.000-0.013 (%)	0.001%
RBC	5.10-8.50 ( $\times 10^{12}/L$ )	5.80 $\times 10^{12}/L$
HGB	110-190 (g/L)	111 g/L
HTC	33-56 (%)	55.7%
MCV	60-76 (fL)	67.6 fL
MCH	20-27 (pg)	25.3 g/L
MCHC	300-380 (g/L)	352 g/L
RDW-CV	0.125-0.172 (%)	0.135 %
RDW-SD	33.2-46.3 (fL)	35.7 fL
PLT	117-490 ( $\times 10^9/L$ )	224 $\times 10^9/L$
MPV	8.0-14.1 (fL)	8.1 fL
PDW	12.0-17.5 (%)	17.0%
PCT	0.9-5.8 (mL/L)	0.9 mL/L

No dia seguinte (4 de Outubro) foi reavaliada. Encontrava-se alerta, com remissão da sintomatologia anterior. Foi realizada uma PAAF ao nódulo, e após observação ao MOC (Microscópio ótico Composto) obteve-se o diagnóstico de mastocitoma moderadamente diferenciado. Uma vez que o nódulo tinha dimensões reduzidas, era possível a sua excisão completa. Não foi possível realizar mais exames por impossibilidade financeira do dono, e portanto não foi possível estadiar clinicamente o MTC. A Flapy continuou com a medicação anteriormente iniciada, mas por via oral.

No dia 10 de Outubro procedeu-se à extirpação do nódulo sem envio da amostra para histopatologia devido aos custos. Foi administrado por via parenteral Noroclav<sup>®</sup> e meloxicam (Meloxidyl<sup>®</sup> 5mg) 0,2 mg/kg. Foi prescrita cefalexina (Tsefalen<sup>®</sup> 1g) na dose de 20 mg/kg, durante mais 7 dias e meloxicam (Meloxivet<sup>®</sup> 1,5mg) durante 3 dias numa dose de 0,1 mg/kg. Continuou-se a antibioterapia de forma profiláctica, para tentar impedir que se desenvolva uma infecção local, uma vez que esta vive num ambiente conspurcado e o tutor não tem condições de a manter contida e em repouso, e administraram-se anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) pelas suas propriedades anti-inflamatórias.

No dia 24 de Outubro foi reavaliada e aconselhado o início de terapêutica adjuvante, no entanto o tutor não aceitou devido aos custos associados.

No dia 3 de Março de 2016 a Flapy foi levada à consulta após ter sido encontrada em decúbito lateral. O tutor referiu que a Flapy andava prostrada e com anorexia nos últimos dias. Apresentava-se com 28kg de peso e era capaz de se colocar em estação apenas por breves períodos de tempo como resposta a estímulos externos, colocando-se em decúbito lateral rapidamente. Ao exame físico, apresentava-se hipotérmica (temperatura de 36.7°C), com mucosas pálidas, pulso forte e síncrono, sem nada a denotar na auscultação cardíaca e respiratória. À palpação abdominal apresentava sinais de dor. Os linfonodos regionais apresentavam-se normais à palpação. Foi realizada uma radiografia abdominal latero-lateral direita (Figura 2), onde se verificou uma perda de definição no abdómen cranial e na ecografia abdominal foi possível visualizar-se uma massa esplénica de grandes dimensões, bem delimitada, homogénea e com presença de líquido livre em abundância. A silhueta hepática e os linfonodos encontravam-se sem alterações.



**Figura 2 - Radiografia abdominal latero-lateral realizada a 03/03/2016, onde se verifica uma perda de definição do abdómen cranial.**

Foi também realizado um hemograma (Tabela 4), que revelou uma anemia normocítica e normocrômica e trombocitopenia severa; e bioquímicas sanguíneas (Tabela 5), onde se pode verificar a presença de azotémia, bem como os valores hepáticos muito elevados.

**Tabela 5 - Hemograma realizado à Flapy no dia 03/03/2016**

Análise	Valores de referência	Resultados
WBC	6-17 ( $\times 10^9/L$ )	12.54 $\times 10^9/L$
Neutr.	3.62-12.30 ( $\times 10^9/L$ )	11.52 $\times 10^9/L$
Linf.	0.83-4.91 ( $\times 10^9/L$ )	0.27 $\times 10^9/L$
Mon.	0.14-1.97 ( $\times 10^9/L$ )	0.72 $\times 10^9/L$
Eos.	0.04-1.62 ( $\times 10^9/L$ )	0.03 $\times 10^9/L$
Bas.	0.00-0.12 ( $\times 10^9/L$ )	0.00 $\times 10^9/L$
%Neutro.	0.520-0.810 (%)	0.919%
%Linf.	0.120-0.330 (%)	0.021%
%Mon.	0.020-0.130 (%)	0.058%
%Eos.	0.005-0.100 (%)	0.002%
%Bas.	0.000-0.013 (%)	0.000%
RBC	<b>5.10-8.50 (<math>\times 10^{12}/L</math>)</b>	<b>2.97<math>\times 10^{12}/L</math></b>
HGB	<b>110-190 (g/L)</b>	<b>75 g/L</b>
HTC	<b>33-56 (%)</b>	<b>20.1%</b>
MCV	60-76 (fL)	67.7 fL
MCH	20-27 (pg)	25.3 pg
MCHC	300-380 (g/L)	374 g/L
RDW-CV	0.125-0.172 (%)	0.135%
RDW-SD	33.2-46.3 (fL)	35.5 fL
PLT	117-490 ( $\times 10^9/L$ )	37 ( $\times 10^9/L$ )
MPV	8.0-14.1 (fL)	8.1 fL
PDW	12.0-17.5 (%)	20.7%
PCT	0.9-5.8 (mL/L)	0.3 mL/L

**Tabela 6 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Flapy a 03/03/2016**

Análise	Valores de referência	Resultados
CREA	<b>0.4-1.4 (mg/dl)</b>	<b>2.9 mg/dl</b>
BUN	<b>9.2-29.2 (mg/dl)</b>	<b>83.7 mg/dl</b>
ALT	<b>17-78 (Ui/L)</b>	<b>794 Ui/L</b>
ALP	<b>13-83 (Ui/L)</b>	<b>181 Ui/L</b>

Como principais diagnósticos diferenciais foram consideradas neoplasias: metastização de mastocitoma; hemangiossarcoma; linfoma; hematoma; hematopoiese extramedular.

O tutor não quis investir no tratamento sintomático nem na busca de um diagnóstico. Para não perpetuar o sofrimento da Flapy, foi realizada a sua eutanásia.

### Caso clínico Nº3

A Bolota, canídeo de raça Labrador Retriever, de pelagem preta, fêmea inteira, de 11 anos e 35kg de peso vivo (condição corporal 5/5), foi levada à consulta, para uma segunda opinião de dermatologia, no dia 9 de Novembro de 2015 devido a prurido intenso e lesões na zona lombar.

Habitava num apartamento, com acesso a passeios regulares e com a vacinação e restantes profilaxias atualizadas. Não coabitava com nenhum outro animal. Não estava a fazer medicações.

Os parâmetros do exame físico encontravam-se normais, sem nada de significativo a denotar. A temperatura era de 39,2°C, pulso forte e síncrono, 120 bpm e 20 rpm, e não apresentava alterações na auscultação cardiopulmonar. No exame dermatológico foram observadas pústulas na região caudal das coxas e uma dermatite na região ventral, estando esta zona alopecica, havendo também uma dermatite húmida na base da cauda. Eram visíveis imensas fezes de pulga. Na palpação das glândulas mamárias detectaram-se 6 massas em M2, M3, M4 e M5 do lado esquerdo e em M4 e M5 do lado direito. O tutor referiu só ter reparado no nódulo da M4 do lado esquerdo, uma vez que este tinha vindo a aumentar de tamanho significativamente. Era um nódulo bem delimitado, alopecico, não aderente aos tecidos, não doloroso à palpação, eritematoso e quente ao toque, com cerca de 3cm de diâmetro. Não se detetou nenhuma alteração na palpação dos linfonodos periféricos.

Como principais diagnósticos diferenciais considerou-se para as lesões dermatológicas – dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP) e para os nódulos mamários: tumores mamários benignos e/ou malignos (como adenoma mamário e carcinoma mamário, respetivamente), hiperplasia/displasia das glândulas mamárias, e/ou outras neoplasias como mastocitoma, etc.

Através do exame dermatológico foi-lhe diagnosticada DAPP e um diagnóstico presuntivo de tumores mamários. Aconselhou-se uma alimentação apropriada para uma perda de peso gradual, bem como a realização de um ciclo de cirurgias que incluíam a realização de uma mastectomia unilateral total + ovariectomia (para prevenir a possibilidade de desenvolver outras doenças ligadas ao sistema reprodutor da fêmea, tal como as piómetras) (Sorenmo *et al*, 2013) e mastectomia total contralateral 1 a 2 meses depois, com envio para histopatologia de cada uma das cadeias mamárias, para correta identificação do tipo histológico de cada um dos nódulos. Foi administrado Bravecto 1000mg, para controlo das pulgas, amoxicilina com ácido clavulânico 500+125mg, na dose de 22mg/kg BID, durante vinte e um dias para tratar a infecção existente na epiderme e foi

também prescrita prednisolona 5mg na dose de 0,5mg/kg SID, para diminuir a inflamação e o prurido associado à DAPP

Foi reavaliada no dia 16 de Novembro, onde se verificou uma diminuição do tamanho do nódulo na M4 do lado esquerdo e remissão da sintomatologia associada à DAPP. Apresentou uma diminuição do peso para 32,8kg. A 9 de Dezembro, o nódulo localizado na M4 do lado esquerdo estava novamente aumentado, eritematoso e com uma consistência mais firme, tendo-se iniciado o robenacoxib (Onsior® 40mg) na dose de 1mg/kg/dia, durante seis dias. Agendou-se a mastectomia unilateral e a ovariectomia (OVH) para dia 16 de Dezembro.

No dia 16 de Dezembro, foi realizado hemograma e bioquímicas sanguíneas, que apresentavam valores normais. Foram realizadas radiografias torácicas latero-lateral direita e esquerda, não tendo sido identificados sinais de metástases. Foi então realizada a mastectomia radical esquerda e OVH, e as amostras foram enviadas para análise histopatológica. Na alta clínica foi prescrita amoxicilina com ácido clavulânico 1g, na dose de 15 mg/kg BID, durante oito dias profilaticamente, Onsior® 40mg (SID durante três dias) e analgesia por tramadol 100mg, na dose de 3mg/kg (BID durante três dias até reavaliação) para analgesia.

Uma semana depois foi recebido o relatório de histopatologia que relatou três tipos distintos de neoplasia: o nódulo subjacente a M2, com 1,5 cm de diâmetro, foi identificado como sendo um adenoma complexo; o nódulo subjacente a M3 com 1cm de diâmetro foi identificado como sendo um carcinoma complexo de grau II. Ambos os nódulos apresentavam margens limpas. Entre a M3 e M4, o nódulo com 4 cm de diâmetro foi identificado como sendo um mastocitoma de Grau II, de acordo com a classificação de Patnaik, com invasão ganglionar. Este mastocitoma afetava a epiderme e a derme, sendo possível observar mastócitos moderadamente diferenciados, com índice mitótico reduzido (<3/10 por campo óptico). As margens cirúrgicas apresentavam células neoplásicas e os gânglios isolados da gordura retromamária apresentavam infiltração mastocitária.

No dia 26 de Dezembro a Bolota foi novamente reavaliada e os parâmetros de exame físico encontravam-se sem alterações significativas, a sutura apresentava apenas um pequeno hematoma, tendo iniciado o uso tópico de Thrombocid® duas vezes ao dia. No mesmo dia foi realizada uma ecografia onde se verificou aumento do tamanho de ambos os linfonodos sub-ilíacos e alterações da sua ecogenicidade. Foram discutidas as opções de terapêuticas adjuvantes disponíveis, como a quimioterapia endovenosa com vimblastina (VBL), o Palladia®, a lomustina, bem como os custos e efeitos adversos inerentes a cada terapêutica. O tutor optou pelo Palladia® 50mg (por ser de administração oral) e a 6 de

Janeiro foi iniciada a sua administração numa dose de 2,75mg/kg, que equivalia a duas cápsulas por dia, em dias alternados.

No dia 26 de Fevereiro detetou-se aparecimento de um nódulo na zona da sutura. Realizou-se um hemograma e bioquímicas séricas que não apresentaram alterações significativas e ainda uma PAAF ao nódulo, que confirmou a presença de mastocitoma citologicamente bem diferenciado (provavelmente uma recidiva local). Realizou-se também uma ecografia abdominal de controlo, revelando as alterações nos linfonodos previamente descritas. Iniciou-se então prednisolona 20 mg, na dose de 1mg/kg/dia. A administração do Palladia® foi descontinuada, e foi aconselhado iniciar-se quimioterapia endovenosa com vimblastina (VBL) (Tabela 7), visto não haver resposta ao Palladia®.

**Tabela 7 - Protocolo de quimioterapia administrado à Bolota (adaptado de Nelson et al, 2014).**

Princípio ativo	Dosagem	Posologia	Duração de Tratamento
Vimblastina	2.0 mg/m <sup>2</sup>	EV q1 semana	6 semanas
Prednisolona	20-25 mg/m <sup>2</sup>	PO QOD	Até término do tratamento

EV- Endovenosa; PO- por via oral; QOD – a cada 48 horas.

A 4 de Março foram realizados um hemograma e bioquímicas sanguíneas, para avaliar a função renal e hepática (que apresentavam valores normais) antes de iniciar a quimioterapia. Iniciou-se o primeiro ciclo de VBL (tabela 7), na tentativa de induzir citoredução da massa, que neste dia apresentava 3cm de diâmetro. Iniciou-se também a administração de omeprazol na dose 1 mg/kg, durante todo o tratamento. A 11 de Março, foram repetidas as análises sanguíneas que apresentavam valores normais e realizou-se a segunda sessão de quimioterapia. A Bolota encontrava-se com um peso de 29,45kg e a massa tinha diminuído de tamanho, para 1,5cm de diâmetro. Manteve-se a dose e posologia de prednisolona. A 15 de Março o tamanho da massa manteve-se inalterado e o tutor tomou a decisão de parar a administração da quimioterapia. A prednisolona foi também reduzida para metade da dose.

A 6 de Abril foram realizadas novas análises sanguíneas (tabela 8), onde se verificou um ligeiro aumento da ALT. Realizou-se a extirpação do novo nódulo e linfonodos inguinais, bem como a mastectomia da cadeia contralateral, com envio dos nódulos para histopatologia. Foi prescrita cefalexina (Tsefalen® 1g), na dose de 15mg/kg BID durante oito dias, omeprazol 20mg, na dose de 1mg/kg/dia e a posologia da prednisolona manteve-se. Foi-lhe também colocado um patch de fentanil 100µg/H

**Tabela 8 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Bolota a 06/04/2016**

Análise	Valores de referência	Resultados
CRE	0.4-1.4 (mg/dl)	0.4 mg/dl
BUN	9.2-29.2 (mg/dl)	14.0 mg/dl
Glicémia (GLU)	75-128 (mg/dl)	110 mg/dl
Albumina (ALB)	2.6-4.0 (g/dl)	3.5 g/dl
ALT	<b>17-78 (Ui/L)</b>	<b>94 Ui/L</b>

A 8 de Abril, a Bolota foi levada à consulta com queixas de vômitos incoercíveis no dia anterior e prostração. Removeu-se o penso da mastectomia e verificou-se a existência de uma dermatite de contacto. Agendou-se reavaliação para o dia seguinte para remover o patch de fentanil. Foi prescrita fortiflora, 1 saqueta SID durante 5 dias para restabelecimento da flora intestinal, tramadol 100 mg, na dose de 4mg/kg três vezes ao dia (TID) durante 3 dias, e aplicação de gelo e Omnimatrix® na zona inflamada, duas vezes ao dia.

Voltou à consulta em 18 de Abril (após a recepção do relatório de histopatologia, em que nenhum dos nódulos mamários foi identificado como um MTCC; o nódulo novo foi identificado como um MTCC de grau II; havia infiltração dos linfonodos inguinais de mastócitos neoplásicos. As margens cirúrgicas apresentavam-se limpas); foi aconselhado retomar os ciclos da quimioterapia, que o tutor não aceitou. A 23 de Abril, voltou a consulta, com queixas de anorexia e prostração. Os parâmetros ao exame físico apresentavam-se normais. O membro posterior direito apresentava um linfedema, não havendo claudicação nem dor à palpação do mesmo. O membro posterior esquerdo também se encontrava ligeiramente edemaciado. Foi prescrita prednisolona na dose de 1mg/kg/dia, tramadol na dose de 5mg/kg TID e omeprazol na dose de 0,5mg/kg/dia. Dois dias depois, foi reavaliada e o edema dos membros tinha reduzido moderadamente. Após aconselhamento médico, o tutor preferiu iniciar Palladia® para que a Bolota pudesse ficar no conforto do lar. Foi terminada a administração de tramadol e foi prescrita alfa-amilase (Maxilase® 3000UC) BID no sentido de tratar a edemaciação dos membros.

Foi reavaliada a 7 de Maio; estava a comer bem, alerta e bem-disposta, com aumento de peso para os 29,7kg. Realizou hemograma, que apresentava valores normais e bioquímicas sanguíneas (Tabela 9) onde se verificou que a ALT estava o dobro do normal.



**Tabela 9 - Bioquímicas sanguíneas realizadas à Bolota a 07/05/2016**

Análise	Valores de referência	Resultados
CRE	0.4-1.4 (mg/dl)	0.4 mg/dl
BUN	9.2-29.2 (mg/dl)	12.9 mg/dl
ALT	17-78 (Ui/L)	161 Ui/L

Iniciou-se então o Palladia® (na dose de 2.75mg/kg em dias alternados) e manteve o omeprazol na dose e posologia previamente prescrita, assim como a prednisolona em dias alternados com o Palladia® e iniciou o hepatoprotetor Denosyl® 225mg, dois comprimidos SID durante 15 dias. Voltou a consulta no dia seguinte, com queixas de prostração e tremores. Ao exame físico, verificou-se a existência de uma nova massa na região inguinal, na mesma localização do último nódulo extirpado (sendo portanto, uma possível recidiva local), firme, não aderente aos tecidos subjacentes, sem dor à palpação e com cerca de 2cm. Apresentava também um edema na face ventral da coxa esquerda, com zonas de hematoma, bem como dois pequenos nódulos, alopecicos, hipertérmicos, com dor à palpação, na região peri-vulvar (Figura 2). Foi retomado o tramadol na dose de 5mg/kg e aconselhada a aplicação de gelo e de Thrombocid® nas zonas de hematoma.



**Figura 3 - Imagem dos mastocitomas localizados na região vulvar evidenciando sinais de desgranulação, como equimos e edema (fotografia original).**

No dia 9 de Maio realizou uma PAAF dos nódulos vulvares, tendo-se diagnosticado mastocitoma bem diferenciado. O tutor descrevia a Bolota como extremamente prostrada e nauseada. Administrou-se Solu-medrol® 125mg/ml, na dose de 0,5mg/kg via intramuscular (IM); ranitidina na dose de 2mg/kg e tramadol na dose de 2mg/kg SC. Foi prescrito cloridrato de hidroxizina (Atarax® 100mg) na dose de 2.2 mg/kg QOD e prednisolona na dose de 1mg/kg QOD em dias alternados com o Palladia®.

A 17 de Maio a Bolota foi levada novamente a consulta. Encontrava-se alerta, bem-disposta e a comer bem, tendo aumentado de peso para 29,9kg. Os nódulos estavam significativamente maiores e o edema tinha aumentado. Retomou-se o Maxilase® durante oito dias, bem como a medicação previamente prescrita. Repetiram-se bioquímicas sanguíneas para avaliar os valores hepáticos, sendo que estes se mantinham elevados.

A 21 de Maio o edema estava significativamente maior em extensão e tinha surgido um novo nódulo (lateral à coxa do membro posterior esquerdo com 2,5 cm de diâmetro) e apresentava hematemese. Uma vez que a sintomatologia podia ser tanto por desgranulação dos mastócitos como por uma ulceração provocada pelo uso de prednisolona, esta foi descontinuada e mantida a restante medicação prescrita.

A 23 de Maio, devido à deterioração da sua condição física e qualidade de vida, o tutor decidiu a eutanásia da Bolota.

## Caso clínico N°4

O Kaizer, canídeo de raça Pitbull, de pelagem castanha, macho castrado com 11 anos de idade e 30,95kg de peso vivo (condição corporal 3,5/5), foi levado à consulta de urgência no dia 14 de Novembro de 2015, devido a convulsões.

Habitava num apartamento, com acesso a passeios regulares. Não coabitava com mais nenhum animal e apresentava a vacinação e desparasitações interna e externa atualizadas. Era seguido noutra clínica e apresentava um historial desde 2012, de múltiplas cirurgias de exérese de sete nódulos cutâneos com diagnóstico de mastocitoma. Em 2014 tinha desenvolvido um nódulo cutâneo (Figura 4) na zona facial do lado esquerdo, que não fora removido e que se encontrava ulcerado desde há algumas semanas.

Encontrava-se com marcha atáxica dos membros torácicos e head-tilt, a proprietária descreveu três episódios de convulsões, a proprietária nunca observou convulsões no Kaizer anteriormente a este episódio. A temperatura era de 37,5°C, o pulso era forte e síncrono, 88 bpm, apresentava frequência respiratória de 30 rpm e a auscultação cardiopulmonar estava normal. À manipulação da região cervical não apresentava dor. Nada a denotar à palpação abdominal. O nódulo localizado acima do músculo masséter esquerdo apresentava uma consistência dura, era bem delimitado, aderente aos tecidos em profundidade, alopecico e ulcerado, com cerca de 2cm de diâmetro. Apresentava dor à palpação e estava hipertérmico. Apresentava ainda outro nódulo cutâneo, no membro pélvico esquerdo acima da articulação do joelho (articulação femorotibiopatelar), com cerca de 1cm, de consistência dura, não aderente aos tecidos e normotérmico. Foram detetados também múltiplos nódulos de alguns milímetros no escroto e abdómen caudal, de consistência firme e não aderentes aos tecidos. Não se detetou alterações na palpação dos linfonodos periféricos. Ao exame neurológico o Kaizer estava pouco responsivo a estímulos externos estando mais confortável em decúbito esternal e apresentava uma anisocoria pouco evidente.

Como principais diagnósticos diferenciais para nódulos cutâneos considerou-se: nódulos de origem neoplásica (devido à história médica passada, provavelmente) inflamatória ou quística (embora menos prováveis). Relativamente às convulsões consideraram-se diagnósticos diferenciais de origem neoplásica intracraniana (como metastização do mastocitoma), de origem vascular, metabólica, inflamatória e/ou infecciosa e ainda que menos provável, derivado a tóxicos.

Como primeira abordagem diagnóstica, foram realizadas PAAFs e feito o diagnóstico de um mastocitoma moderadamente diferenciado em ambos os nódulos da face e coxa, uma vez que o Kaizer tinha realizado exames (hemograma, bioquímicas sanguíneas,

radiografias torácicas e abdominal sem alterações significativas) e a tutora não quis realizar um ionograma, nem uma ecografia abdominal. Após aconselhamento médico, permaneceu no internamento do HVST durante a noite, para observação e estabilização.



**Figura 4 - Imagens do nódulo da face do Kaiser, demonstrando tratar-se de nódulo alopecico, ulcerado e com sinais inflamatórios (fotografias originais).**

No dia 15 de Novembro, devido à história de convulsões, realizou uma TAC no Hospital Veterinário do Restelo, tendo-se detetado uma massa hiperdensa, com cerca de 19 mm, de aparência heterogénea, com focos de mineralização ocasionais a afetar o vérmis cerebelar direito, cujos diagnósticos diferenciais foram, metástase (de um dos mastocitomas), meningioma, schwannoma e neurofibroma.

Foi prescrita prednisolona 20mg, na dose de 0.5mg/kg BID, durante cinco dias, passando a SID *ad eternum*; famotidina 20 mg, na dose de 0.5 mg/kg BID (30 minutos antes da refeição) e em caso de nova convulsão administrar diazepam (Stesolid® 10mg) 1-3 ampolas por via retal.

Foi reavaliado a 23 de Novembro e já conseguia levantar-se e a manter-se em estação sozinho, no entanto, mantinha a marcha atáxica e o head-tilt. Apresentava apetite normal, no entanto tinha perdido peso (estando agora nos 30kg). A tutora referiu que o notava prostrado e com dores. O nódulo na face apresentava o mesmo diâmetro e não houve nenhuma mudança significativa dos restantes nódulos. Foi decidido iniciar Palladia® 50mg, na dose de 2.75 mg/kg, em dias alternados. Foi prescrito tramadol 50mg SID para controlo de dor, bem como a aplicação de Bepanthene® no nódulo ulcerado, após correcta desinfecção com Betadine® diluído.

No dia 27 de Novembro foi levado à consulta devido à ulceração persistente do nódulo da face e da recente ulceração do nódulo da coxa. Foi prescrito cefalexina (Tsefalen® 500 mg)

na dose de 15mg/kg BID, durante dez dias, com continuação da desinfecção tópica dos nódulos ulcerados.

No dia 3 de Dezembro, aumentou de peso para os 32,150kg. Após nova medição dos nódulos, verificou-se que havia uma ligeira diminuição do seu diâmetro, tendo o mastocitoma da face cerca de 1,7cm e o mastocitoma da coxa 0,8cm. A ulceração manteve-se em ambos e um dos nódulos escrotais tinham ulcerado recentemente. Aumentou-se a dose de córticos para BID.

No dia 8 de Dezembro, a tutora trouxe-o de urgência ao hospital devido a uma dor cervical intensa e agravamento da ataxia e do head-tilt. À manipulação da região cervical, o Kaizer vocalizava, principalmente na ventroflexão. Ao exame físico verificou-se que as mucosas se encontravam pálidas e na auscultação cardíaca era audível um sopro apical esquerdo. Foi realizado um hemograma, cujos valores se apresentavam normais.

A tutora, após explicação do prognóstico do Kaizer, decidiu proceder à sua eutanásia.

## Caso Clínico Nº5

O Stimpny Mestre, canídeo de raça American Staffordshire Terrier, de pelagem bege e branca, macho castrado com 5 anos de idade e 37,9kg de peso vivo (condição corporal 4/5), foi levado à consulta no dia 15 de Novembro de 2015, após o tutor ter notado um nódulo na zona inguinal.

Habitava num apartamento, fazia passeios regulares na rua e coabitava com uma cadela esterilizada de raça Pitbull. Tinha historial de conjuntivites recorrentes e um diagnóstico presuntivo de atopia. Em Setembro de 2012 foi-lhe removido um nódulo da zona inguinal, à esquerda do pénis, com diagnóstico histopatológico de Mastocitoma de Grau II com metástases no linfonodo inguinal superficial esquerdo (não realizou tratamento oncológico adjuvante).

Os parâmetros do exame físico encontravam-se normais. A temperatura era de 38,3°C, pulso forte e síncrono, 110 bpm e 32 rpm. Não apresentava alterações na auscultação cardiopulmonar nem à palpação abdominal. O nódulo de localização lateral ao pénis (do lado esquerdo) era cutâneo, bilobado, de consistência firme, não aderente aos tecidos, com cerca de 1 cm de diâmetro. Não apresentava dor à palpação nem estava quente ao toque. Não se detetou nenhuma alteração na palpação dos linfonodos periféricos.

Como principais diagnósticos diferenciais considerou-se nódulo de origem neoplásica, inflamatória ou quística.

Como primeira abordagem diagnóstica foi realizada uma PAAF e o resultado da citologia foi compatível com mastocitoma bem diferenciado. Foi prescrito prednisolona, na dose de 0,5 mg/kg/dia, durante três dias. Foi aconselhada a excisão do nódulo após a realização do estadiamento clínico do mastocitoma.

No dia 16 de Novembro foi efetuada uma radiografia ao tórax onde não foram visíveis alterações e uma ecografia abdominal, onde foi possível observar-se uma alteração na ecogenicidade dos linfonodos ilíacos médios, sem alteração significativa das suas dimensões. Foi feito hemograma (Tabela 10), onde se pôde observar uma ligeira neutrofilia e bioquímicas sanguíneas (Tabela 11).

**Tabela 10 - Hemograma realizado ao Stimpy a 16/11/2015**

Análise	Valores de referência	Resultados
WBC	6-17 ( $\times 10^9/L$ )	15.56 $\times 10^9/L$
Neutr.	<b>3.62-12.30 (<math>\times 10^9/L</math>)</b>	<b>14.28<math>\times 10^9/L</math></b>
Linf.	0.83-4.91 ( $\times 10^9/L$ )	0.60 $\times 10^9/L$
Mon.	0.14-1.97 ( $\times 10^9/L$ )	0.60 $\times 10^9/L$
Eos.	0.04-1.62 ( $\times 10^9/L$ )	0.07 $\times 10^9/L$
Bas.	0.00-0.12 ( $\times 10^9/L$ )	0.01 $\times 10^9/L$
%Neutro.	0.520-0.810 (%)	0.918%
%Linf.	0.120-0.330 (%)	0.039%
%Mon.	0.020-0.130 (%)	0.038%
%Eos.	0.005-0.100 (%)	0.004%
%Bas.	0.000-0.013 (%)	0.001%
RBC	5.10-8.50 ( $\times 10^{12}/L$ )	6.85 $\times 10^{12}/L$
HGB	110-190 (g/L)	174 g/L
HTC	33-56 (%)	49.8%
MCV	60-76 (fL)	72.8 fL
MCH	20-27 (pg)	25.5 pg
MCHC	300-380 (g/L)	350 g/L
RDW-CV	0.125-0.172 (%)	0.147%
RDW-SD	33.2-46.3 (fL)	39.8 fL
PLT	117-490 ( $\times 10^9/L$ )	259 $\times 10^9/L$
MPV	8.0-14.1 (fL)	9.9 fL
PDW	12.0-17.5 (%)	15.7%
PCT	0.9-5.8 (mL/L)	2.56 mL/L

**Tabela 11 - Bioquímicas sanguíneas realizadas a 16/11/2015**

Análise	Valores de referência	Resultados
CREA	0.4-1.4 (mg/dl)	0.8 mg/dl
GLU	<b>75-128 (mg/dl)</b>	<b>141 mg/dl</b>
ALT	<b>17-78 (Ui/L)</b>	<b>106 Ui/L</b>

No dia 18 de Novembro, foi realizada a extirpação do nódulo, embora sem margens cirúrgicas completas devido à localização. O nódulo não foi enviado para histopatologia devido aos custos associados. Iniciou cefalexina (Tsefalen® 1g), na dose de 25mg/kg BID durante seis dias, juntamente com a prednisolona, na dose de 0,5mg/kg/dia durante três dias, passando a um comprimido QOD durante cinco tomas. Apesar de aconselhado, o tutor decidiu não fazer qualquer tipo de terapêutica quimioterápica por uma questão monetária.

Apenas se apresentou a uma consulta de seguimento no 10 de Agosto. Foi realizado um exame físico extenso onde todos parâmetros se encontravam normais e não lhe foi localizado nenhum novo nódulo, apenas uma verruga no lado direito do peito. O tutor

decidiu não realizar exames complementares de diagnóstico, como uma nova ecografia abdominal.

Até ao mês de Outubro o Stimpy Mestre apresenta-se sem sinais de recidiva de mastocitoma.



## Capítulo 5 – Discussão dos casos clínicos

Os MTC são um dos tipos neoplásicos mais comuns que se desenvolvem nos cães pelo que a discussão da aplicação das diferentes modalidades de tratamento tem uma grande relevância em clínica dos animais de companhia, o que fomentou a realização deste trabalho.

Através da análise dos 5 casos clínicos apresentados, podemos constatar que esta neoplasia acometeu principalmente cães de grande porte (4 casos), 3 geriátricos (com 11 anos) e 2 jovens adultos (4 e 5 anos). Relativamente à raça, não se verificou nenhuma predisposição racial em particular, sendo todos de raças diferentes incluindo braquicéfalos, mesocéfalos e dolicocefalos.

A apresentação clínica dos mastocitomas, quer em termos de aspecto morfológico quer em localização, foi muito variável, o que é característico desta doença (revisto por Garrett, 2014), incluindo nódulos cutâneos, subcutâneos e na glândula mamária, com tamanhos desde 7 mm até 5,5 cm. Apenas um caso (a Flapy) apresentou sinais clínicos que poderiam estar relacionados com síndrome paraneoplásica, nomeadamente vômito e diarreia.

Todos os casos, com exceção do MTC na glândula mamária da Bolota, foram diagnosticados através de citologia aspirativa. É fundamental saber o diagnóstico definitivo antes da extirpação de qualquer nódulo cutâneo/subcutâneo, pois as margens cirúrgicas dependem do tipo de neoplasia (Pratschke *et al.*, 2013; Risselada *et al.*, 2015). No caso da Bolota, como o diagnóstico só foi obtido após a intervenção cirúrgica, este não foi removido com margens completas, pois as margens necessárias para remover um MTCC são, em geral, maiores do que para remover nódulos neoplásicos de origem glandular mamária (revisão feita por Dank, 2016)

Apesar de o estadiamento clínico ser decisivo na tomada de decisões em termos da terapêutica a aplicar e para estabelecer o prognóstico em cada caso, verificou-se que os múltiplos exames complementares necessários nem sempre são realizados na íntegra pelo seu custo. Um dos exames complementares de estadiamento decisivo para o prognóstico e tratamento consiste na realização de citologia aspirativa dos gânglios linfáticos regionais, independentemente da existência ou não de alterações na palpação (Kiupel, 2017). No entanto este não foi realizado em nenhum dos casos clínicos acompanhados o que poderá ter subestimado o comportamento biológico dos MTCC (como exemplo, no caso clínico da Flapy, da Bolota e do Kaizer).

De salientar também que, apesar da reduzida probabilidade de metastização dos MTCC para os pulmões, foram realizadas radiografias torácicas em todos os casos, sem

outra indicação médica. Este dado mostra-nos que é fundamental que os clínicos tomem decisões muito ponderadas relativamente a que exames complementares são essenciais ao prognóstico e planeamento terapêutico, tendo em conta as características clinico-patológicas do tumor e de cada doente, tal como descrito nos diagramas de diagnóstico/tratamento referenciados na literatura (Sledge *et al.*, 2016). Um dos exames complementares de estadiamento pré-cirúrgico mais importantes nos MTC é a realização de ecografia abdominal, dado que é frequente ocorrer metastização para linfonodos intrabdominais, bem como para o fígado e baço (Book *et al.*, 2011), o que poderá comprometer o tratamento cirúrgico. Por exemplo, no caso da Bolota, não foi realizado nenhum exame de estadiamento pré-cirúrgico, tendo-se verificado depois da extirpação da neoplasia, que havia invasão ganglionar regional pelo MTCC e alterações ecográficas nos gânglios ilíacos. Só nos casos do Ewok e do Stimpny Mestre é que foram realizadas ecografias abdominais pré-cirúrgicas para estadiamento, mas não foram realizadas citologias aspirativas do fígado e do baço, o que segundo a bibliografia está indicado fazer quando os animais apresentam alterações ecográficas ou no caso de MTCC indiferenciados (Stefanello *et al.*, 2009; Book *et al.*, 2011).

Não foi realizado, em nenhum caso clínico, esfregaço de buffy coat para pesquisa de mastocitemia, o que está de acordo com as indicações da literatura, dado que não é um exame com grande valor prognóstico nos cães, pelo facto de muitos animais apresentarem mastócitos em circulação devido a outras causas (por exemplo a doenças alérgicas) que não a disseminação neoplásica (Garret *et al.*, 2007; Blackwood *et al.*, 2012). Também não foi realizada citologia de medula óssea, estando esta indicada quando há citopenias no hemograma (Endicott *et al.*, 2007), nos MTCC indiferenciados ou nos casos com recidivas tumorais (Marconato *et al.*, 2008).

Outra questão importante relativamente a factores de prognóstico prende-se com os MTC de grau II com margens cirúrgicas completas, como no caso do Ewok; estes MTC têm um comportamento biológico variável e alguns têm capacidade de metastizar e ter mau prognóstico, pelo que está indicado realizar também o estudo do c-kit (através de PCR ou da determinação do padrão de expressão imunohistoquímico), do score de Ki67 e/ou dos AgNORs (revisto por Sledge *et al.*, 2016). Apesar de na Bolota também ter sido diagnosticado MTC de grau II, neste caso já sabíamos que o prognóstico era mais reservado pois apresentava margens com doença microscópica e metastização nos gânglios linfáticos regionais, pelo que não haveria necessidade de fazer as marcações imunohistoquímicas mencionadas anteriormente.

Relativamente às modalidades de tratamento utilizadas, verificou-se que na maioria dos doentes se optou pelo tratamento cirúrgico como primeira abordagem (casos da Flapy,

da Bolota e do Stimpy Mestre), tal como recomendado na literatura (Kiupel, 2017). No caso do Ewok, como a massa apresentava grandes dimensões, realizou-se primeiro tratamento neoadjuvante com corticoesteróides e Palladia® para citorredução, sendo a massa posteriormente extirpada cirurgicamente na totalidade. No entanto, segundo a literatura, estaria mais indicado realizar quimioterapia neoadjuvante, dado que apenas uma percentagem pequena de MTC responde ao Palladia®; a resposta ocorre sobretudo nos que apresentam mutações no c-kit, o que não foi explorado em nenhum dos casos seguidos (Laquintana et al., 2009; London et al., 2009). No entanto constatou-se que o fármaco mais usado como tratamento neoadjuvante para citorredução foi a prednisolona, tendo sido administrado ao Ewok, à Bolota e ao Stimpy.

Além do uso neoadjuvante, a quimioterapia está também indicada quando as margens cirúrgicas apresentam doença microscópica (caso da Bolota) quando o tumor é grau III (não houve nenhum caso) e quando existem sinais de metastização local ou distante (como no caso da Bolota e suspeita no caso do Kaiser) (Blackwood *et al.*, 2012; Garrett, 2014). No entanto, a quimioterapia foi, na grande maioria dos casos, descartada pelos tutores devido aos custos (exemplo do caso da Flapy, do Kaizer e do Stimpy), e pela logística envolvida na deslocação do animal até às instalações para a realização de cada ciclo quimioterápico (exemplo da Bolota). O facto de a quimioterapia com vimblastina implicar também a realização de controlos hematológicos semanais desencorajou alguns tutores, apesar de as taxas de eficácia deste protocolo serem em geral superiores aos obtidos nos TKI's (Vickery *et al.*, 2008; Webster *et al.*, 2008). O protocolo quimioterápico usado pelo HVST foi adaptado do protocolo padrão descrito por Nelson *et al.* 2014, em MTC sistémicos, cuja excisão não é possível e/ou na presença de metastização. Este consiste no uso alternado de lomustina, VBL e prednisolona, sendo um protocolo de 12 semanas. A sua adaptação (de 6 administrações no espaço de 6 semanas) poderá não produzir os resultados desejáveis uma vez que o ideal (em termos de percentagem de resposta global) seria que o tratamento de VBL com prednisolona tivesse uma duração de 12 semanas, num total de 8 administrações (revisto por Garrett, 2014).

Em comparação, no caso do Palladia®, a periodicidade de realização dos exames complementares de controlo pode ser mais alargada, sendo geralmente realizada de três em três ou de quatro em quatro semanas dependendo do estado geral do animal (London et al., 2009). No entanto, importa ressaltar que os efeitos a longo prazo da administração dos TKI's bem como a duração dos protocolos de tratamento não estão ainda claramente definidos na literatura.

No caso do Kaiser (massa cerebelar e MTCC na face e coxa), o uso de Palladia® como tratamento de primeira linha poderá não ter sido a escolha mais adequada uma vez

que não havia confirmação de que a massa cerebral se tratasse de uma metástase. Além disso não se sabe se o Palladia<sup>®</sup> tem efeito em neoplasias do sistema nervoso central (SNC). Neste caso em particular, talvez a lomustina tivesse sido uma escolha mais apropriada, pois além de ser um dos citotóxicos de eleição no tratamento dos MTC, ultrapassa a barreira hematoencefálica tendo também algum efeito nas neoplasias cerebrais (Rassnick *et al.*, 2010). Burton *et al.* (2015), estudou a possibilidade de combinar estes dois tratamentos (lomustina e Palladia<sup>®</sup>), descrevendo uma taxa de resposta global de 46% em MTC não extirpáveis, sendo esta superior ao efeito individual da lomustina (Burton *et al.*, 2015). Esta combinação poderia ter sido igualmente uma opção terapêutica no caso do Kaizer. No entanto, o tratamento com lomustina é dispendioso (pois a sua venda no hospital em questão é por caixa e não por unidade) tendo, por isso, esta opção sido rejeitada pela tutora. Ainda relativamente à lomustina, existe uma outra dificuldade com a qual as clínicas se deparam, que é o facto de a sua única apresentação comercial em Portugal ser cápsulas de 40mg, e de nem sempre ser fácil conseguir quem faça um manipulado com diferentes dosagens, pelo que nem sempre é possível usar este tratamento.

O motivo pelo qual não houve nenhum animal a ser tratado com Masivet<sup>®</sup>, o outro TKI disponível para uso veterinário, deve-se ao facto dos custos associados à sua administração serem mais elevados que os do Palladia<sup>®</sup> e também por ser uma substância activa mais específica atuando sobre um menor número de receptores nas células tumorais e portanto, com menor potencial para ser igualmente eficaz, enquanto que o modo de acção do toceranib parece ser mais abrangente (Dubreuil *et al.*, 2009; London, 2013), aumentando a compliance dos tutores para com a sua compra e administração.

Nos casos do Ewok e da Bolota, optou-se pelo uso conjugado de Palladia<sup>®</sup> com prednisolona de forma intercalada. No entanto, esta combinação está associada a efeitos hepatotóxicos (80%) e GI moderados (100%) (Carlsten *et al.*, 2012) e não está comprovado que traga benefícios em termos de resposta ao tratamento (London *et al.*, 2009). Teria sido recomendado nestes casos o uso profilático de hepatoprotetores (Chon *et al.*, 2011), bem como a monitorização da Alanina Aminotransferase (ALT), da Fosfatase Alcalina (ALP), e dos ácidos biliares pré e pós-prandiais (Hosoya *et al.*, 2009; Skorupski *et al.*, 2011).

Segundo a literatura, está também indicado administrar, de forma profilática, fármacos que reduzam ou inibam a acidez gástrica (ex. inibidores da bomba de prótons e antagonistas dos receptores H<sub>2</sub> da histamina) e antagonistas dos receptores H<sub>1</sub> da histamina para evitar os efeitos da síndrome paraneoplásica resultante da desgranulação mastocitária (Bailey *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2014). No entanto, só se verificou a administração de famotidina (Ewok e Kaiser), ranitidina (Flapy) e omeprazole (Bolota), não tendo sido administrados anti-histamínicos antagonistas H<sub>1</sub>, o que deveria ter

sido ponderado sobretudo nos casos de MTC de maiores dimensões ou múltiplos, antes da realização das PAAF's e da extirpação cirúrgica.

Nos casos com margens histológicas incompletas, ou seja com doença microscópica presente, (ex. da Bolota) e/ou com gânglios linfáticos com metástases que tenham sido extirpados, poder-se-ia sugerir a realização de RT adjuvante no local das incisões (do nódulo primário e do gânglio) para controlo da doença local (Donnelly *et al.*, 2013). Apesar da RT ser o tratamento locoregional de eleição nestes casos, obtendo melhores resultados que a quimioterapia (Thamm *et al.*, 2006; Donnelly *et al.*, 2013), esta modalidade de tratamento não está disponível em Portugal, mas já está em Espanha, devendo ser uma alternativa de tratamento a oferecer aos tutores.

Importa salientar que foram também encontradas algumas dificuldades no estudo de alguns casos, nomeadamente o facto de não haver o envio dos nódulos da Flapy e do Stimpy Mestre para análise histopatológica (por opção do tutor), o que não permitiu ter o diagnóstico definitivo e o grau de diferenciação do tumor, bem como avaliar as margens cirúrgicas, parâmetros estes que são fundamentais para prever o prognóstico do doente e para averiguar a necessidade de se fazer tratamento adjuvante (Krick *et al.*, 2009; London & Thamm, 2013). Outro problema observado na maioria dos casos clínicos foi a baixa compliance dos tutores para comparecer às consultas de acompanhamento, que na maioria dos casos se deveu a alegadas dificuldades monetárias dos tutores. Idealmente, todos os doentes oncológicos após o tratamento e estando em remissão, devem ser reavaliados para estadiar a doença ao fim do primeiro mês e se não houver sinais de recidiva, os acompanhamentos podem ser posteriormente efectuados trimestralmente durante 18 meses e semestralmente durante o resto da vida (London & Thamm, 2013).

No que toca aos tempos de sobrevida (TS), é relevante mencionar que nos casos clínicos do Ewok e do Stimpy, o TS foi superior a um ano (após extirpação cirúrgica), o que está de acordo com o TS médio descrito na bibliografia (Kiupel *et al.*, 2004). De acordo com o artigo de revisão escrito por Garrett, (2014), o TS médio descrito para MTC inguinais é tendencialmente superior a um ano, o que se verificou no caso do Stimpy. No caso clínico da Bolota, o TS foi de apenas 26 semanas após a extirpação cirúrgica, apesar do MTC ser de grau II e de se ter realizado um protocolo quimioterápico. No caso do Kaizer, que apresentava nódulos tumorais em mais do que uma localização incluindo no vérmis cerebelar, a sua sobrevida foi de apenas 3 semanas após o diagnóstico, o que é característico das neoplasias cerebrais que em geral estão associadas a reduzidos TS (Rossmeisl *et al.*, 2013).

Por fim, de salientar que a eutanásia foi realizada com o consentimento do tutor, apenas quando os animais já apresentavam a sua qualidade de vida comprometida.

## Capítulo 6 - Conclusão

Os mastocitomas cutâneos são a segunda neoplasia cutânea mais comum no cão, e de facto foram o tipo de neoplasia mais frequentemente observado durante o estágio.

Foi possível acompanhar várias apresentações de MTCC, com diversas dimensões (desde alguns milímetros até 15 cm), em várias localizações (face, torác, cadeia mamária, região inguinal, membros, vulva), e com diversas morfologias, e comportamentos biológicos variáveis. Os animais acompanhados tinham entre os 4 e os 11 anos de idade (na sua maioria com 11 anos) e foram representadas algumas das principais raças com predisposição para o desenvolvimento de MTC (American Staffordshire Terrier, Boxer, Labrador Retriever).

Apesar do diagnóstico e estadiamento precoces serem essenciais para se determinar o comportamento biológico da neoplasia e, conseqüentemente, para a selecção da terapêutica mais adequada em cada caso, verificou-se que isto nem sempre foi efectuado, o que pode ter comprometido o sucesso do tratamento em alguns animais. As dificuldades socioeconómicas dos tutores foram uma das principais limitações para a escolha do plano de diagnóstico e tratamento.

Em conclusão, este estágio curricular permitiu desenvolver os conhecimentos da aluna sobre a prática clínica de pequenos animais, não só em termos médicos mas também em termos sociais.

## Referências bibliográficas:

Albrecht M, Muller K, Kohn M, Meineke V & Mayerhofer A (2007) Ionizing radiation induces degranulation of human mast cells and release of tryptase. *Int J Rad Biol*, 83(8), 535–541.

Allison R & Velguth K (2010) Appearance of granulated cells in blood films stained by automated aqueous versus methanolic Romanowsky methods. *Vet Clin Patho*, 39(1), 99–104.

Arendt M, Melin M, Tonomura N, Koltoonian M, Courtay-Cahen C, Flindall N (2015). Genome-Wide Association Study of Golden Retrievers Identifies Germ-Line Risk Factors Predisposing to Mast Cell Tumours. *PLoS Genet* 11 (11): e1005647. doi:10.1371/journal.pgen.1005647.

Bailey D, Rassnick K, Kristal O, Chretien J & Balkman C (2008). Phase I Dose Escalation of Single-Agent Vinblastine in Dogs. *J Vet Inter Med*, 22, 1397–1402.

Berlato D, Murphy S, Monti P, Stewart J, Newton, Flindall A *et al.*, (2013). Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, 13(2), 143–150.

Blackwood L, Murphy S, Buracco P, De Vos J, De Fornel-Thibaud P, Hirschberger J *et al.*, (2012) European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Onc*, 10(3), 1e-29e. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x.

Book A, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R & Matton J (2011). Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet Rad & Ultras*, 52;5, 548–554.

Brocks B, Neyens I, Teske E & Kirpensteijn J (2008). Hypotonic water as adjuvant therapy for incompletely resected canine mast cell tumors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Vet Surg*, 37, 472-478.

Burton J, Venable R, Vail D, Williams L, Clifford C, Axiak-Bechtel S *et al.*, (2015). Pulse-Administered Toceranib Phosphate plus Lomustine for Treatment of Unresectable Mast Cell Tumors in Dogs. *J Vet Inter Med*, 29, 1098-1104.

Cahalane A, Payne S, Barber L, Duda L, Henry C, Mauldin G *et al.*, (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases. *J Amer Vet Med Assoc*, 225, 401-408.

Camps-Palau M, Leibman N, Elmslie R, Lana S, Plaza J, McKnight *et al.*, (2007). Treatment of Canine Mast Cell Tumours with Vinblastine, Cyclophosphamide and Prednisone: 35 cases (1997-2004). *J Comp, Vet Comp Onc*, 5; 3, 156-167.

Camus M, Priest H, Koehler J, Driskell E, Rakich P, Ilha M *et al.*, (2016). Cytologic criteria for mast cell tumor grading in dogs with evaluation of clinical outcome. *Vet Patho*, doi:10.1177/0300985816638721.

Carlsten K, London C, Haney S, Burnett R, Avery A & Thamm D (2012). Multicenter Prospective Trial of Hypofractionated Radiation Treatment, Toceranib, and Prednisone for Measurable Canine Mast Cell Tumors. *J Vet Inter Med*, 26, 135-141.

Casagrande T, Barro L, Fukumasu H, Cogliati B, Chaible L, Dagli M *et al.*, (2013). The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, 13;1: 1-10; DOI: 10.1111/vco.12010.

Chon E, McCartan L, Kubicek L & Vail D (2011). Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study\*. *Vet Comp Onc*, DOI: 10.1111/j.1476-5829.2011.00265.x, 1-10.

Chretien J, Rassnick K, Shaw N, Hahn K, Ogilvie G, Kristal O, *et al.*, (2007). Prophylactic trimethoprim-sulfadiazine during chemotherapy in dogs with lymphoma and osteosarcoma; a double-blind, placebo-controlled study. *J Vet Intern Med*, 21, 141–148.



Cooper M, Tsai X & Bennett P (2009). Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Vet comp onc*, 7 (3), 196-206.

Dank G (2016). Review of the Treatment of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Isr J Vet Med*, 71 (2), 3-9.

Dobson J (2010). Clinical staging and the TNM classification in: *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3rd Edition) British Small Animal Veterinary Association, pp. 20-30.

Dobson J (2012). Breed-Predispositions to Cancer in Pedigree Dogs; Review article. *ISRN Vet Sci*, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/941275>, 1-23.

Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Castéran N *et al.*, (2009). Masitinib (AB1010), a Potent and Selective Tyrosine Kinase inhibitor Targeting KIT. *Plos One*, 4(9), 1-12.

Donnelly L, Mullin C, Balko J, Goldschmidt M, Krick E, Hume C *et al.*, (2013). Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised caninemast cell tumours. *Vet Comp Onc*, 13, 1, 70–76.

Elliott J, Cripps P, Blackwood L, Berlato D, Murphy S & Grant I (2013). Canine oral mucosal mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, DOI: 10.1111/vco.12071.

Elston L, Sueiro F, Cavalcanti J, Metze K (2009). The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. *Vet Pathol*, 46: 362–365.

Finora K, Leibman N, Fettman M, Powers B, Hackett T & Withrow S (2006). Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and of dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Vet Comp Onc*, 4(3), 178–183.

Fonseca-Alves C, Bento D, Torres-Neto R, Werner J, Kitchell B & Laufer-Amorim R (2015). Ki67/KIT double immunohistochemical staining in cutaneous mast cell tumors from Boxer dogs. *Vet Sci*, 102, 122–126.

Fulcher R, Ludwig L, Bergman P, Newman S, Simpson A & Patnaik A (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumours in dogs. *J Amer Vet Med Assoc*, 228: 210-215.

Garrett L, Craig C, Szladovits B & Chun R (2007). Evaluation of buffy coat smears for circulating mast cells in healthy cats and ill cats without mast cell tumor–related disease. *J Amer Vet Med Assoc*, 231, 1685–1687.

Garrett L (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary Medicine: Res and Rep*, 5, 49–58.

Gelderen A, Archer J & Herrtage M (2011). Pre- and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumours. *Comp Clin Pathol*, 20:209–215.

Gil da Costa R, Matos E, Rema A, Lopes C, Pires M & Gartner F (2007). CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers. *BMC Vet Res*, 3(19): 1-7.

Gil da Costa R (2015) C-kit as a prognostic and therapeutic marker in canine cutaneous mast cell tumours: From laboratory to clinic. *The Vet J*, doi: 10.1016/j.tvjl.2015.05.002.

Grant J, North S & Lanore D (2016). Clinical response of masitinib mesylate in the treatment of canine macroscopic mast cell tumours. *J Small Anim Prac*, 57, 283–290.

Hillman L, Garrett L, de Lorimier L, Charney S, Borst L & Fan T (2010). Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases; *J Amer Med Vet Assoc*, 237: 936-942.

Hosoya K, Kisseberth W, Alvarez F, Lara-Garcia A, Beamer G, Stromberg P & Couto C (2009a). Adjuvant CCNU (lomustine) and prednisone chemotherapy for dogs with incompletely excised grade 2 mast cell tumors. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 45, 14-18.

Hosoya K, Lord L, Lara-Garcia A, Kisseberth W, London C & Couto C (2009b). Prevalence of elevated alanine transaminase activity in dogs treated with CCNU (Lomustine). *Vet Comp Onc*, 7:244–255.

Hume C, Kiupel M, Rigatti L, Shofer F, Skorupski K & Soremno K (2011). Outcomes of Dogs with Grade 3 Mast Cell Tumors: 43 Cases (1997–2007). *JAAHA*, 47:1, 37-44.

Junqueira C e Carneiro J (2008) *Tecido conjuntivo em Histologia Básica*. (11º Ed., 95-99) Guanara Koogan S.A.

Kiupel M, Webster J, Kaneene j, Miller R, & Yuzbasiyan-Gurkan V (2004). The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Patho*, 41: 371–377.

Kiupel M, Webster J, Miller R & Kaneene J (2005). Impact of Tumour Depth, Tumour Location and Multiple Synchronous Masses on the Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *J Vet Med*, 52, 280–286.

Kiupel M, Webster J, Bailey K, Best S, DeLay J, Detrisac S *et al.*, (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Vet Patho*, 48: 147-155.

Kiupel M (2017). Mast Cell Tumors in Meuten D: Tumors in Domestic Animals (5ªEd. 176-195). John Wiley & Sons, Inc

Kodre V, Cemazar M, Pecar J, Sersa G, Cor A & Tozon N (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo*, 23: 55-62.

Krick E, Billings A, Shofer F, Watanabe S & Sorenmo K (2009). Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Vet Comp Onc*, 7, 130-138.

Kumar V & Sharma A (2010). Mast cells: emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Molec Imm*, 48 ,14-25.

Legorreta RA, Denman DL, Kelley MC, Lewis GC (1988). Use of hyperthermia and radiotherapy in treatment of a large mast cell sarcoma in a dog. JAVMA, 193(12), 1545-1548.

Lin T, Rush L & London C (2006). Generation and characterization of bone marrow-derived cultured canine mast cells. Vet Imm Immunopatho, 113: 37-52.

London C, Malpas P, Woof-Folis S, Boucher J, Rusk A, Rosenberg M *et al.*, (2009). Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. Clin Canc Res, 15 (11): 3856-3865.

London C, Mathie T, Stingle N, Clifford C, Haney S, Klein K *et al.*, (2011). Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia®) in solid tumours(\*). Vet Comp Onc, 10, 194–205.

London A (2013). Kinase dysfunction and kinase inhibitors. Vet Derm, 24, 181–40.

London C & Thamm D (2013). Mast Cell Tumors In Withrow J, Vail D, Page L *et al* Withrow and Macewen's: Small Animal Clinical Oncology (5<sup>a</sup> Ed., 335-355). Elsevier Health Sciences - Saunders.

Marconato L, Bettini G, Giacoboni C, Romanelli G, Cesari A, Zatelli A, *et al.*, (2008). Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. J Vet Inter Med, 22, 1001–1007.

Melissa T, Duda L, Brown D & Krick E (2016). Palliative radiation therapy for solid tumors in dogs:103 cases (2007–2011). J Amer Vet Med Assoc, 248:72–82.

Meuten D, Moore F & George (2016). Mitotic count and the field of view area: Time to standardize. Vet Patho, 53, 7–9.

Miller W, Griffin C & Campbell K (2013). Diagnostic Methods in: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. (7<sup>a</sup>Ed., 57-107) Elsevier-Mosby.

Miller R, Lelyveld S, Warland J, Dobson J & Foale R (2014). A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Onc*, doi: 10.1111/vco.12116.

Murakami M, Sakai H, Kodama A, Mori T, Maruo K, Yanai T, *et al.*, (2008). Expression of the Anti-apoptotic Factors Bcl-2 and Survivin in Canine Vascular Tumours. *J Comp Patho*, 139: 1-7.

Murphy S, Sparkes A, Smith K, Blunden A & Brearley M (2004). Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *Vet Rec*, 154: 743-746.

Murphy S, Sparkes A, Blunden A, Brearley M & Smith K (2006). Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet Rec*, 158, 287-291.

Nardi A, Raposo T, Huppes R, Daleck C & Amorim R (2011). COX-2 Inhibitors for Cancer Treatment in Dogs. *Pak Vet J*, 31(4), 275-279.

Nelson R, Couto C, Davidson A, DiBartola S, Hawkins E, Lappin M *et al.*, (2014). Selected Neoplasms in: Dogs and Cats in Small Animal Internal Medicine. (5<sup>th</sup> Ed., 1191-1200) Elsevier Mosby.

North S & Banks T (2009). Mast Cell Tumour In: S. North, & T. Banks, Introduction to Small Animal Oncology (1<sup>st</sup> ed., 183-196). Saunders - Elsevier.

O'Connell K & Thomson M (2013). Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. *Vet Comp Oncol*, 11:51–62.

Owen L (1980). TMN Classification of tumours in Domestic Animals. World Health Organization; 1st Edition. Pp. 6-11, 13-15.

Patnaik A, Ehler W & MacEwen E (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*; 21: 469–74.

Patruno R, Arpaia N, Gadaleta C, Passantino L, Zizzo N, Misino A *et al.*, (2009). VEGF concentration from plasma-activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *Found Cell Mol Med*, 13, 555-561.

Penn Veterinary Medicine (2007) Mast Cell Tumours. Acedido em 08 de Novembro de 2017 em <http://cal.vet.upenn.edu/projects/derm/Home/MASTCELL/canine/cmct.htm>.

Peter B, Cerny-Reiterer S, Hadzijusufovic E, Schuch K, Stefanzi G, Eisenwort G *et al.*, (2014) The pan-Bcl-2 blocker obatoclax promotes the expression of Puma, Noxa, and Bim mRNA and induces apoptosis in neoplastic mast cells. *J Leukoc Biol*, 95, 95–104.

Piviani M, Walton R & Patel R (2013). Significance of mastocytemia in cats. *Amer Soc Vet Clin Patho*, 42(1), 4–10.

Poirier V, Adams W, Forrest L, Green E, Dubielzig R & Vail D (2006). Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumours. *J Amer Anim Hosp Assoc*, 42, 430–434.

Pratschke K, Atherton M, Sillito J & Lamm C (2013). Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008–2012). *Jour Amer Vet Med Assoc*, 243(10):1436–1441.

Ooku A, Dhaskali L & Dhaskali S (2016). Cytology of skin round cell tumors in dogs. Work presented in the 4th Global Virtual Conference. DOI: 10.18638/gv.2016.4.1.767.

Queiroz G, Matera J & Dagli M (2008). Clinical Study of Cryosurgery Efficacy in the Treatment of Skin and Subcutaneous Tumors in Dogs and Cats. *Vet Surg*, 37, 438–443.

Quinta's-Cardama A, Jain N & Verstovsek S (2011). Advances and Controversies in the Diagnosis, Pathogenesis, and Treatment of Systemic Mastocytosis. *Amer Canc Soc*, 117: 5439–49.

Rassnick K, Bailey D, Flory A, Balkman C, Kiselow M, Intile M, Intile J *et al.*, (2008) Efficacy of Vinblastine for Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med* 2008;22:1390–1396.

Rassnick K, Bailey D, Russell D, Flory A, Kiselow M, Intile J *et al.*, (2010). A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, 8: 138–152.

Risselada M, Mathews K & Griffith E (2015). Surgically planned versus histologically measured lateral tumor margins for resection of cutaneous and subcutaneous mast cell tumors in dogs: 46 cases (2010–2013). *J Amer Anim Hospital Assoc*, 247(2), 184-189.

Robat C, London C, Bunting L, McCartan L, Stingle N, Selting K *et al.*, (2011). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (palladia®) in dogs: a phase I dose-finding study. *Vet Comp Onc*, 10: 1-9.

Romansik E, Reilly C, Kass P, Moore P & London C (2007). Mitotic Index is Predictive of Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Patho*, 44: 335-341.

Rossmeisl J, Jones J, Zimmerman K and Robertson J (2013) Survival time following hospital discharge in dogs with palliatively treated primary brain tumors. *J Am Vet Med Assoc*, 242: 193–198.

Sabattini S, Scarpa F, Berlato D, Bettini G (2015). Histologic grading of canine mastcell tumor: Is 2 better than 3? *VetPatho*, 52, 70–73.

Scase T, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A, *et al.*, (2006). Canine mast cell tumours: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Inter Med*, 20: 151–158.

Schultheiss P, Gardiner D, Rao S, Olea-Popelka F & Tuohy J (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Amer Med Vet Assoc*, 238, 1464–1469.

Seguin B, McDonald D, Kent M, Walsh P & Theon A (2005). Tolerance of cutaneous or mucosal flaps placed into a radiation therapy field in dogs. *Vet Surg*, 34, 214–222.

Seguin B, Besancon M, McCallan J & Dewe L (2006). Recurrence rate, clinical outcome, and cellular proliferation indices as prognostic indicators after incomplete surgical excision of cutaneous Grade II mast cell tumors: 28 dogs. *J Vet Intern Med*, 20, 933–940.

Sfiligoi G, Rassnick K, Scarlett J, Northrup N & Gieger T (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases; *J Amer Med Vet Assoc*, 226, 1368-1374.

Shoop S, Marlow S, Church D, English K, McGreevy P, Stell A *et al.*, (2015). Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Can Gen Epid*, 2, 1–19.

Skorupski K, Hammond G, Irish A, Kent M, Guerrero T, Rodriguez C *et al.*, (2011). Prospective randomized clinical trial assessing the efficacy of Denamarin for prevention of CCNU-induced hepatopathy in tumor-bearing dogs. *J Vet Intern Med*, 25:838–845.

Sledge D, Webster J & Kiupel M (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Vet J*, 215, 43–54.

Smith J, Kiupel M, Farrelly J, Cohen R, Olmsted G, Kirpensteijn J *et al.*, (2015). Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Vet Comp Onc*, doi:10.1111/vco.12140.

Smrkovski O, Essick L, Rohrbach B & Legendre A (2013). Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, DOI: 10.1111/vco.12053.

Spugnini E, Vincenzi B, Baldi F, Citro G & Baldi A (2006). Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Res*, 26, 4585-4589.

Spugnini E, Vincenzi B, Baldi F, Citro G & Baldi A (2011). Evaluation of Cisplatin as an Electrochemotherapy Agent for the Treatment of Incompletely Excised Mast Cell Tumors in Dogs. *J Vet Intern Med*, 25: 407–411.



Stanclift R & Gilson S (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. J Amer Vet Med Assoc, 232, 53–62.

Stefanello D, Valenti P, Faverzani S, Bronzo V, Fiorbianco V, Pinto da Cunha N *et al.*, (2009). Ultrasound-Guided Cytology of Spleen and Liver: A Prognostic Tool in Canine Cutaneous Mast Cell Tumor. J Vet Intern Med; 23:1051–1057.

Stefanello D, Buracco P, Sabattini S, Finotello R, Giudice C, Grieco V, *et al.*, (2015). Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009–2014). J Amer Med Vet Assoc, 246, 765–769.

Stockmann D, Ferrari H, Andrade A, Lopes R, Cardoso T & Luvizotto M (2011). Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. Braz J Veter Patho, 4(1), 67-75.

Tanabe S, Yamaguchi M, Iijima M, Nakajima S, Sakata I & Myiaki S (2004). Fluorescence detection of a new photosensitizer, PAD-S31, in tumour tissues and its use as a photodynamic treatment for skin tumours in dogs and a cat: a preliminary report. Vet J; 167: 286-293.

Taylor F, Gear R, Hoather T & Dobson J (2009). Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. J Small Anim Pract, 50: 284–289.

Takeuchi Y, Fujino Y, Watanabe M, Takahashi M, Nakagawa T, Takeuchi A, *et al.*, (2013). Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A retrospective cohort study. Vet J, 196, 492–498.

Thamm D, Mauldin E, Vail D (1999). Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor—41 cases (1992-1997). J Vet Intern Med, 13:491-497.

Thompson J, Pearl D, Yager J, Best S, Coomber B, Foster R, *et al.*, (2011a). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. Veterinary Pathology, 48(1), 156-168.

Thompson J, Yager J, Best S, Pearl D, Coomber B, Torres R *et al.*, (2011b). Canine subcutaneous mast cell tumors: cellular proliferation and KIT expression as prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48(1):169–181.

Thrall D & Dewhirst M (1985). Use of Radiation and/or Hyperthermia for Treatment of Mast Cell Tumors and Lymphosarcoma in Dogs. *Vet Clin N Amer: Small Ani Pract*; 15 (4): 835-843.

Vail D, von Euler H, Rusk A, Barber L, Clifford C, Elmslie R *et al.*, (2012). A randomized trial investigating the efficacy and safety of water soluble micellar paclitaxel (Paccal Vet) for treatment of nonresectable grade 2 or 3 mast cell tumors in dogs. *J Vet Inter Med*, 26(3): 598–607.

Vascellari M, Giantin M, Capello K, Carminato A, Morello M, Vercelli A, *et al.*, (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: Association with grading and prognosis. *Vet Path* 50, 110–121.

Vickery K, Wilson H, Vail D & Thamm D (2008). Dose-escalating Vinblastine for the treatment of canine mast cell tumour. *Journal compilation, Vet Comp Onc*; 6; 2: 111-119.

Villamil J, Henry C, Bryan J, Ellersieck M, Schultz L, Tyler J *et al.*, (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *J Americ Vet Med Assoc*, 239, 960–965.

Warland J & Dobson J (2013). Breed predispositions in canine mast cell tumour: A single center experience in the United Kingdom. *Vet J*, 197, 496–498.

Welle M, Bley C, Howard J & Rufenacht S (2008). Canine Mast Cell Tumours: a review of the pathogenesis clinical features, pathology and treatment. *ESVD and ACVD J compil*, 19, 321-339.

Webster J, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kaneene J, Miller R, Resaub J & Kiupel M (2006). The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Neopl Press Inc*, 2; 8, 104-111.

Webster J, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller A, Kaneene J & Kiuper M (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Path*, 44;3, 298-308.

Webster J, Yuzbasiyan-Gurkan V, Thamm D, Hamilton E & Kiupel M (2008). Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Vet Res*, 4: 32, 1-8.

White C, Hohenhaus A, Kelsey J & Procter-Gray E (2011). Cutaneous MCTs: associations with spay/neuter status, breed, body size, and phylogenetic cluster. *J Amer Anim Hosp Assoc*, 47, 210–216.

Willimott S & Wagner S (2010). Post-transcriptional and post-translational regulation of BCL-2. *Biochem Soc Trans*, 38:1571–1575.

Worley D (2012). Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00354.x.